

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene,
Fleischhygiene und -technologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin
und der
Landesanstalt für Veterinärmedizin und
Lebensmittelhygiene Berlin
des Senators für Gesundheit, Soziales und Familie

EIN BEITRAG ZUM VORKOMMEN VON YERSINIA ENTEROCOLITICA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gerhard Stengel
Tierarzt aus Essen

Berlin 1983
Journal-Nr. 1121





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546607_0054

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene,
Fleischhygiene und -technologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin
und der
Landesanstalt für Veterinärmedizin und
Lebensmittelhygiene Berlin
des Senators für Gesundheit, Soziales und Familie

EIN BEITRAG ZUM VORKOMMEN VON
YERSINIA ENTEROCOLITICA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gerhard Stengel
Tierarzt aus Essen

Berlin 1983
Journal-Nr. 1121

**Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

Fachbereichssprecher:

Prof. Dr. F. Hörchner

Referent:

Prof. Dr. F. Untermann

Korreferent:

Prof. Dr. E. Hellmann

Tag der Promotion:

20. Mai 1983

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung des
Bundesministers für Jugend, Familie und Gesundheit
im Rahmen eines Forschungsvorhabens durchgeführt.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. LITERATURÜBERSICHT	3
B 1. Taxonomie	3
B 1.1. Geschichtlicher Rückblick	3
B 1.2. Einteilung in Biotypen	5
B 1.3. Einteilung in Serotypen	8
B 1.4. Verbreitung und Bedeutung von Bio- und Serotypen	9
B 2. Charakterisierung von <i>Yersinia enterocolitica</i> durch Pathogenitätstests	12
B 2.1. Virulenznachweis bei Laboratoriumstieren	12
B 2.2. Nachweis von Enterotoxin	14
B 2.3. Nachweis der Zellinvasivität	15
B 2.4. Autoagglutination	19
B 2.5. Bildung von V und W Antigenen und ihre Calciumabhängigkeit	20
B 2.6. Vorkommen von Plasmiden	21
B 2.7. Macrophagenvirulenztest	22
B 2.8. Resistenz gegenüber Normalserum	23
B 3. Kultureller Nachweis von <i>Yersinia enterocolitica</i>	24
B 4. Vorkommen von <i>Yersinia enterocolitica</i>	26
B 4.1. <i>Yersinia enterocolitica</i> beim Menschen Erkrankungsbild und Verbreitung	26
B 4.2. Vorkommen bei Tieren	30
2.1. Vorkommen bei Rindern	30
2.2. Vorkommen bei Schweinen	31
2.3. Vorkommen bei Hunden und Katzen	34
2.4. Vorkommen bei anderen Tierarten	35

	Seite
B 4.3. Vorkommen in Lebensmitteln	36
3.1. Vorkommen in Fleisch und Fleischerzeugnissen	36
3.2. Vorkommen in Milch und Milcherzeugnissen	38
3.3. Vorkommen in anderen Lebensmitteln	40
3.4. Vorkommen in Wasser	41
3.5. Tenazität und Vermehrungsbedingungen von <i>Yersinia enterocolitica</i>	41
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	47
C 1. Material und Methoden	47
C 1.1. Probenentnahme	47
C 1.2. Nährmedien für den Nachweis von <i>Yersinia enterocolitica</i>	48
C 1.3. Kultureller Keimnachweis	49
C 1.4. Identifizierung von <i>Yersinia enterocolitica</i>	50
C 1.5. Pathogenitätstests	52
C 2. Ergebnisse	59
D. DISKUSSION	66
E. ZUSAMMENFASSUNG	77
F. SUMMARY	79
G. TABELLEN	81
H. LITERATURVERZEICHNIS	116

A. EINLEITUNG

Yersinia enterocolitica zählt zu den Mikroorganismen, deren Bedeutung in den letzten Jahren zunehmend gewachsen ist. Heute nimmt dieser Erreger eine ähnliche Stellung in der Seuchenhygiene ein wie z.B. Salmonellen und andere bakterielle Erreger von Darminfektionen (Bockemühl et al., 1978, Primavesi 1980, Knapp und Weber 1982). Die Übertragungswege von *Yersinia enterocolitica* und damit die gesamten Infektketten von *Yersinia enterocolitica*-Infektionen konnten bisher nur in wenigen Einzelfällen geklärt werden, auch wenn anhand epidemiologischer Untersuchungen verschiedener Erkrankungsfälle die Infektionen ihren Ausgang von erkrankten Menschen oder Haustieren, von Lebensmitteln oder Wasser genommen haben sollen (Knapp und Weber 1982).

Verschiedene Untersuchungsergebnisse zeigten, daß das Schwein ein wichtiges Reservoir für *Yersinia enterocolitica* ist, insbesondere von solchen Stämmen, die beim Menschen als pathogen bekannt sind. Demzufolge werden auch vom Schwein stammende Lebensmittel als mögliche Infektionsquellen diskutiert, da die Infektion, wie epidemiologische Untersuchungen zeigten, wohl auf oralem Weg erfolgt. Eine Übertragung vom Schwein auf den Menschen durch Genuß von Fleischerzeugnissen kommt sicherlich nur dann in Betracht, wenn es sich um rohe Ware, wie z.B. Hackfleisch, handelt. In der vorliegenden Untersuchung sollte daher sowohl der Frage nach dem Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* bei Schlachtschweinen als auch in rohem Hackfleisch nachgegangen werden, um mögliche Zusammenhänge aufzeigen zu können. Weiterhin wurden auch Rohmilcheinzelproben und Oberflächen- und Abwasserproben auf das Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* geprüft,



die ebenfalls als Keimreservoir in Betracht zu ziehen sind.

Häufig diskutiert wird immer wieder die Problematik der Isolierung, da die *Yersinia enterocolitica* Stämme unterschiedliche Ansprüche an die Nährmedien stellen. Es wurden aus diesem Grund bei den vorliegenden Untersuchungen verschiedenartige Anreicherungsmedien und Nährböden parallel eingesetzt.

Für die Epidemiologie ist von Bedeutung, die aus Schweinen oder anderen Proben isolierten Stämme mit den menschlichen Enteritis-Stämmen zu vergleichen, um die Frage der Pathogenität dieser Isolate für den Menschen zu klären. Neben der biochemischen und serologischen Charakterisierung pathogener Stämme wird zunehmend versucht, diese Stämme mittels Pathogenitätstests zu beschreiben. Die isolierten Stämme wurden daher anhand 7 der derzeit bekannten Tests geprüft. Zum Vergleich standen 12 *Yersinia enterocolitica* Stämme zur Verfügung, die aus Faecesproben von Enteritis-Patienten im Landesmedizinaluntersuchungsamt Berlin isoliert worden waren.

B. LITERATURÜBERSICHT

B 1. TAXONOMIE

B 1.1. Geschichtlicher Überblick

Yersinia enterocolitica ist ein gramnegatives, zu der Familie der Enterobacteriaceae gehörendes fakultativ anaerobes, kokkoides Stäbchen, das bei Wachstumstemperaturen unter 30° C eine peritriche Begeißelung aufweist. Wichtige biochemische Eigenschaften sind eine negative Oxidase- und eine positive Katalase-Reaktion. Kohlehydrate werden fermentativ ohne Gasbildung gespalten und, mit Ausnahme des Biotyps 5, wird Nitrat zu Nitrit reduziert.

In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology wird die Bezeichnung *Yersinia enterocolitica* zum ersten Mal in der 8. Auflage 1974 erwähnt. Davor ist der Erreger unter verschiedenen Bezeichnungen geführt worden.

Der erste Bericht über diesen Keim findet sich in einer Arbeit von Schleifstein und Coleman (1939). Die Autoren hatten seit 1923 mehrere Bakterienstämme aus geschwürigen Haut- und Lymphknotenläsionen sowie von Patienten isoliert, die an einer akuten Enteritis oder akuten Enterocolitis erkrankt waren. Die Isolate, die sich taxonomisch nicht einordnen ließen, verhielten sich morphologisch und biochemisch ähnlich wie *Pasteurella pseudotuberculosis* und *Bacterium ligniæri*. Später bezeichneten die Autoren die Erreger als *Bacterium enterocoliticum* (Schleifstein und Coleman 1943). Hässig et al. (1949) beschrieben Infektionen beim Menschen, deren pathologisch-anatomische Organver-

Änderungen denen bei der tierischen Pseudotuberkulose ähnelten. Sie bezeichneten die Erreger daher als *Pasteurella pseudotuberculosis*. Knapp und Thal (1963) führten jedoch später den Nachweis, daß diese Stämme in ihren biochemischen Reaktionen von *Pasteurella pseudotuberculosis* abwichen und es sich somit um eine neue Species handeln mußte.

Seit den 60er Jahren häuften sich in der Literatur Berichte über diesen Erreger. Von den wechselnden Bezeichnungen seien *Pasteurella pseudotuberculosis*, *Pasteurella pseudotuberculosis-like organism*, *Pasteurella pseudotuberculosis* Typ B, *Pasteurella Y*, *Germe X* und *Pasteurella X* genannt (Dickinson und Mocquot 1961, Daniels 1963, Daniels und Goudzwaard 1963, Mollaret und Chevalier 1964, Morris und Feeley 1976).

Frederiksen konnte 1964 bei Vergleichsuntersuchungen zwischen Stämmen, die als *Pasteurella X* bezeichnet wurden und den von Hässig et al. (1949) isolierten Kulturen feststellen, daß beide die gleichen Eigenschaften, wie die von Schleifstein und Coleman (1939) beschriebenen Bakterienstämme aufwiesen und schlug deshalb vor, die provisorische Speciesbezeichnung *Pasteurella X* durch die neue Speciesbezeichnung *Yersinia enterocolitica* zu ersetzen. Der neue Gattungsname *Yersinia* war zu Ehren des französischen Bakteriologen A.J.E. Yersin, der als Erster 1894 das Pestbakterium isoliert hatte, gewählt worden.

Inzwischen hat die Gattungsbezeichnung *Yersinia* allgemeine Anerkennung gefunden, wobei die drei Species *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* und *Yersinia enterocolitica* unterschieden werden (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 1974).

B 1.2. Einteilung in Biotypen

Zahlreiche in den letzten 10 Jahren publizierte Untersuchungen ließen erkennen, daß die unter der Speciesbezeichnung *Yersinia enterocolitica* geführten Stämme in ihren biochemischen Eigenschaften differierten, so daß eine Unterscheidung in verschiedene Biotypen notwendig wurde. Der erste Vorschlag für eine Unterteilung in 5 Biotypen stammte von Niléhn (1969). Dieses auf biochemischen Eigenschaften der Erreger basierende Schema wurde in den folgenden Jahren verschiedentlich modifiziert und ergänzt. Am häufigsten finden sich in der Literatur 3 Biotypen-Einteilungen und zwar die nach Niléhn (1969), die nach Wauters (1970) sowie die nach Knapp und Thal (1973). Die Differenzierungsschemata dieser Autoren sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Mit diesen Einteilungen lassen sich jedoch nicht alle sogenannten *Yersinia enterocolitica* bzw. *Yersinia enterocolitica* "like" Stämme erfassen. Hierzu gehören Stämme, die Saccharose negativ, Rhamnose positiv (Weaver und Jordan 1973, Knapp und Thal 1973, Bottone et al., 1974), Citrat positiv (Chester et al., 1977), Laktose positiv (Schiemann und Toma 1978), Raffinose positiv und Melibiose negativ (Bottone et al., 1974, Chester et al., 1977) sind. Sie wurden verschiedentlich als atypische *Yersinia enterocolitica* Stämme oder als *Yersinia enterocolitica*-ähnlich beschrieben.

Ein wesentlicher Durchbruch in der Klassifizierung der *Yersinia enterocolitica* Stämme und insbesondere der Unterscheidung von typischen und atypischen Stämmen gelang durch die DNA-Hybridisations-Technik, mit deren

Hilfe genetische Verwandtschaftsbeziehungen zwischen Bakterienstämmen aufgezeigt werden können (Brenner et al., 1976). Diese Untersuchungen bestätigten auch, daß die Yersinien aufgrund der DNA-Struktur der Familie der Enterobacteriaceae zuzuordnen sind. Sie führten darüber hinaus zu der Erkenntnis, daß tatsächlich größere genetische Unterschiede zwischen den Stämmen bestehen, die bisher aufgrund biochemischer Eigenschaften als typisch bzw. atypisch bezeichnet wurden. Damit bestätigte sich auch die Auffassung von Knapp und Thal (1973), daß Rhamnose positive und Saccharose negative Stämme als atypisch anzusehen sind und für sie die Schaffung selbständiger Species gerechtfertigt ist. Die mit Hilfe der DNA-Hybridisations-Technik erzielten Ergebnisse führten zu dem Vorschlag, neben der Speciesbezeichnung *Yersinia enterocolitica*, für die bis dahin willkürlich als atypisch bezeichneten *Yersinia enterocolitica* Stämme drei weitere Speciesbezeichnungen einzuführen:

Y e r s i n i a f r e d e r i k s e n i i
Y e r s i n i a i n t e r m e d i a
Y e r s i n i a k r i s t e n s e n i i

(Brenner et al., 1976, Brenner 1979, Bercovier et al., 1980 a, b; Brenner et al., 1980 a, b; Ursing et al., 1980). In den Tabellen 2 und 3 sind die 4 Species unter Berücksichtigung biochemischer und serologischer Eigenschaften zusammengestellt.

Die Species *Y e r s i n i a e n t e r o c o l i t i c a* umfaßt heute eine Keimgruppe, die in mehrere Biotypen, und zwar üblicherweise in die 5 Biotypen nach Niléhn (1969) oder nach Wauters (1970) unterteilt wird (Tabelle 1).

Yersinia frederiksenii wurde nach dem dänischen Mikrobiologen Wilhelm Frederiksen benannt. Derartige Stämme wurden von Menschen und Tieren, sowie aus Kuhmilch und Wasser isoliert. Sie gelten als fakultativ pathogen für den Menschen (Bercovier et al., 1978, Bottone 1977, Highsmith et al., 1977, Schiemann 1978 b, Bottone und Robin 1979, Bercovier et al., 1980 a, Ursing et al., 1980, Wuthe et al., 1982).

Yersinia intermedia wurde so bezeichnet, weil dieser Keim aufgrund seiner biochemischen Eigenschaften eine Mittelstellung zwischen *Yersinia enterocolitica* und *Yersinia pseudotuberculosis* einnimmt. Der Nachweis der Species gelang bei Menschen, Nagetieren, Fischen, Wasserproben sowie bei Fleisch. Es wird vermutet, daß auch diese Keimart fakultativ pathogen für den Menschen ist (Bottone et al., 1974, Hanna et al., 1976, Bottone 1977, Chester et al., 1977, Bercovier et al., 1978, Schiemann 1978 b, Brenner et al., 1980 a, b, Myers et al., 1982).

Yersinia kristensenii wurde nach dem dänischen Mikrobiologen M. Kristensen benannt. Diese Keimart konnte sowohl von Menschen und Tieren als auch aus Erdbproben und aus Gemüse isoliert werden. Die Möglichkeit einer fakultativen Pathogenität für den Menschen wird auch bei dieser Species diskutiert (Bottone 1977, Bercovier et al., 1978, Bottone und Robin 1979, Bercovier et al., 1980 b, Ursing et al., 1980, Kapperud und Langeland 1981).

Die vorstehende Einteilung, in der neben den Species *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* und *Yersinia enterocolitica* drei weitere Species der Gattung *Yersinia* aufgeführt werden, findet bereits gelegentlich Anwendung (Kapperud und Langeland 1981, Schiemann und Fleming 1981, Myers et al., 1982, Wuthe et al., 1982).

Es gibt daneben auch andere Möglichkeiten, nach denen eine Einteilung von *Yersinia enterocolitica* unter Berücksichtigung sog. atypischer Stämme vorgenommen wird, wie beispielsweise das von Winblad (1979) publizierte Schema, in welchem 7 Subgruppen von *Yersinia enterocolitica* aufgeführt werden (Tabelle 4). Hierbei finden die biochemische Unterteilung von Niléhn (1969), die O-Serologie von Wauters et al. (1972) und teilweise das Schema von Knapp und Thal (1973) Berücksichtigung.

B 1.3. Einteilung in Serotypen

Ähnlich wie bei anderen Enterobacteriaceae lassen sich auch bei *Yersinia enterocolitica* Oberflächen- (O-), Geißel- (H-) und Kapsel- (K-) Antigene unterscheiden.

Bisher wurden 6 verschiedene Kapsel-Antigene (K 1 bis K 6) beschrieben (Wauters et al., 1971, Wauters 1981). Die für den Menschen pathogenen Stämme weisen allerdings nach dem bisher vorliegenden Ergebnis kein K-Antigen auf (Wauters 1981). Weiterhin lassen sich nach Wauters et al. (1971, 1972) verschiedene H-Antigene, die mit den Buchstaben a - t bezeichnet werden, unterscheiden. Für die Routinediagnostik haben H- und K-Antigene jedoch keine Bedeutung, sondern nur die O-Antigene.

Für letztere wurde, nach einführenden Arbeiten von Knapp und Thal (1963) über das serologische Verhalten von *Yersinia enterocolitica*, 1967 von Winblad ein Antigen-schema bestehend aus 8 O-Faktoren aufgestellt. Niléhn (1969) konnte eine neunte O-Gruppe hinzufügen und in den folgenden Jahren wurde das Antigen-schema auf 17 (Wauters et al., 1971), später auf 34 (Wauters et al., 1972)

O-Faktoren erweitert. Zusätzliche Isolierungen, insbesondere von atypischen Stämmen, die mit den herkömmlichen Seren nicht typisiert werden konnten, veranlaßten Wauters (1981) eine Einteilung in 57 O-Faktoren vorzunehmen.

Um für die medizinische Routinediagnostik eine bessere Übersicht zu gewinnen, stellten Knapp und Thal (1973) ein vereinfachtes Antigenschema auf. Dieses ermöglicht eine Einordnung in 6 verschiedene Serogruppen (I bis VI). Dabei wird die O-Gruppe I in die Untergruppen I A und I B aufgeteilt. Die von Knapp und Thal in den O-Gruppen I, V und VI erfaßten Stämme entsprechen den Serogruppen 3, 9 und 8 nach Winblad.

Hervorzuheben ist, daß Kreuzreaktionen zwischen verschiedenen *Yersinia enterocolitica* Stämmen beobachtet wurden. So finden sich gemeinsame Partialantigene, die zu Mitagglutinationen verschiedener O-Gruppen führen können, z.B.: O : 1, O : 2 und O : 3, O : 7 und O : 8 sowie O : 13 und O : 15. Darüber hinaus wurden sogar Kreuzreaktionen mit anderen gramnegativen Keimen wie *Pseudomonaden* und *Brucellen* sowie zu anderen Species der Familie *Enterobacteriaceae* wie *Salmonella*, *Proteus*, *Serratia* und *E. coli* beschrieben (Ahvonen et al., 1969, Wauters et al., 1971, Hurvell 1972, Knapp und Thal 1973, Winblad 1973, Winblad 1978, Wauters 1981).

B 1.4. Verbreitung und Bedeutung von Bio- und Serotypen

Biotypen und Serotypen lassen sich nur bedingt in ein gemeinsames Schema bringen. Stämme vom Serotyp O : 3 können beispielsweise biochemische Eigenschaften der Biotypen 1, 3 oder 4 aufweisen. Auch die Stämme vom Sero-

typ 0 : 8, die sowohl beim Menschen vorkommen als auch aus Umweltproben und Tieren isoliert werden, können sich aufgrund ihrer biochemischen Reaktionen unterscheiden. Die Auswertung zahlreicher Untersuchungen hat ergeben, daß bei Menschen vorkommende pathogene Stämme einer begrenzten Gruppe von Serotypen (0 : 3; 0 : 5,27; 0 : 8; 0 : 9) und bestimmten Biotypen (2, 3 und 4) zuzuordnen sind. So weisen die beim Menschen vorkommenden pathogenen Stämme vom Serotyp 0 : 3 die Eigenschaften des Biotyps 4 und die Stämme vom Serotyp 0 : 8 wie auch solche der Serotypen 0 : 5,27 und 0 : 9 Charakteristika des Biotyps 2 auf. Gelegentlich sind letztere aber auch dem Biotyp 3 zuzuordnen.

Darüber hinaus konnten für verschiedene Stämme geographische Verbreitungsgebiete bestimmt werden (Bercovier et al., 1980 a). Während der Serotyp 0 : 3 in fast allen Ländern der Welt nachgewiesen wird und somit sicherlich heute der am häufigsten isolierte Serotyp ist, findet man den Serotyp 0 : 5,27 überwiegend in Kanada und den Serotyp 0 : 8 in den USA. Der Serotyp 0 : 9 wird dagegen gehäuft in Europa, insbesondere in Finnland, Belgien und den Niederlanden diagnostiziert. In Deutschland werden nach bisherigen Erkenntnissen überwiegend Isolierungen der pathogenen Serotypen 0 : 3 und 0 : 9 aus Stuhlproben beschrieben (Soemitro et al., 1981). Vereinzelt gelang auch der Nachweis der Serotypen 0 : 5,27 und 0 : 8 (Wuthe et al., 1982).

Neben den o.g. Berichten über die für den Menschen wichtigsten Serotypen liegen auch eine Reihe von Arbeiten vor, die über die Isolierung anderer Serotypen wie z.B. 0 : 5; 0 : 6,30; 0 : 6,31; 0 : 4,32; 0 : 4,33; 0 : 7,8 und 0 : 17 beim Menschen berichten, deren Humanpathogenität jedoch noch weiter geklärt

werden muß (Weaver und Jordan 1973, Bottone et al., 1974, Toma und Lafleur 1974, Bottone und Robin 1979, Pedersen et al., 1979, Toma et al., 1979, Quan 1979, Vandepitte und Wauters 1979, Wauters 1979, Schiemann et al., 1981, Toma und Lafleur 1981, Wuthe et al., 1982).

B 2. CHARAKTERISIERUNG VON YERSINIA ENTEROCOLITICA DURCH PATHOGENITÄTSTESTS

Um eine Abtrennung pathogener von apathogenen Stämmen vornehmen zu können, wurde eine Reihe von Testverfahren entwickelt.

B 2.1. Virulenznachweis bei Laboratoriumstieren

Die Bemühungen, ein Laboratoriumstier zu finden, das als Modell für die Überprüfung der Pathogenität von *Yersinia enterocolitica* dienen könnte, schlugen zunächst fehl (Mollaret und Guillon 1965). Erst Carter et al. (1973) gelang es, bei einem Stamm des Serotyps O : 8, der aus dem Blut eines an Yersiniose erkrankten Patienten isoliert worden war (Keet 1974), Pathogenität für die Maus nachzuweisen. Die LD₅₀ lag nach intravenöser Applikation zwischen 10^2 und 10^3 Keimen und nach oraler Applikation bei 10^8 Keimen. Während sich auch bei weiteren Untersuchungen Stämme des Serotyps O : 8 hochvirulent verhielten (Quan et al., 1974, Schiemann und Devenish 1980, Lee et al., 1981), zeigten Stämme anderer Serotypen, auch die der humanpathogenen Serotypen O : 3 und O : 9, keine oder erst nach Verabreichung so hoher Infektionsdosen ($> 10^9$ Keime) letale Eigenschaften im Tierversuch, daß der Tod wahrscheinlich durch die Endotoxinwirkung verursacht wurde (Niléhn 1973, Quan et al., 1974, Alonso et al., 1975, Bercovier et al., 1976, Pearson et al., 1978, Ricciardi et al., 1978, Schiemann und Devenish 1980, Smith et al., 1981, Hellmann und Schenk 1982). Infektionsversuche mit geringeren Keimzahlen hatten eine mehrwöchige Ausscheidung der Erreger mit dem Kot zur Folge (Ricciardi et al., 1978, Maruyama et al., 1979, Pearson et al., 1979). Nur unter bestimmten Versuchsbedingungen ließen sich für

Stämme der Serotypen O : 3 und O : 9 LD₅₀ Werte im Bereich von 10^5 bis 10^7 Keimen ermitteln (Alonso et al., 1975, Rabson et al., 1975, Bercovier et al., 1976, Lee et al., 1981, Smith et al., 1981).

Von den verschiedenen Nachweismethoden zur Prüfung von Virulenz- und Letalitätseigenschaften von *Yersinia enterocolitica*, die extrachromosomal determiniert zu sein scheinen (Gemski et al., 1980, Lee et al., 1981, Portnoy et al., 1981), findet z. Zt. das *M a u s d i a r r h o e - M o d e l l* von Laird und Cavanaugh (1980) besondere Beachtung. Dieses Modell benutzt den oralen Infektionsweg, der beim Menschen vermutet wird. Dabei wird den Testmäusen (vier bis fünf weiße Mäuse pro Ansatz) für ca. 20 Stunden das Trinkwasser entzogen. Anschließend erhalten sie ad libitum eine Trinkwasser-Keimsuspension ($\sim 10^9$ Keime/ml). Die Tiere werden bis zu 21 Tagen beobachtet. Bei den Stämmen vom Serotyp O : 3 und O : 9 kann lediglich mit dem Auftreten einer Diarrhoe gerechnet werden, während der Serotyp O : 8 sogar bei dieser Methode letal wirkt (Gemski et al., 1980, Doyle et al., 1981, Schiemann 1981, Schiemann et al., 1981, Pai und De Stephano 1982, Schiemann und Devenish 1982).

Ein *S ä u g l i n g s m ä u s e - I n t r a p e r i t o n e a l - I n j e k t i o n s t e s t* wird von Aulisio et al. (1981) beschrieben. Säuglingsmäusen im Alter von 1 bis 3 Tagen wird pro Tier 0,1 ml einer dezimalen Verdünnungsstufe einer Keimsuspension i.p. verabreicht. Sterben die Tiere innerhalb von 2 bis 7 Tagen, wird dies als spezifisch für *Yersinia enterocolitica* beurteilt.

B 2.2. Nachweis von Enterotoxin

Yersinia enterocolitica ist in der Lage, ein hitzestabiles Enterotoxin zu produzieren, das im Säuglingsmäusetest, welcher auch zum Nachweis des hitzestabilen Enterotoxins von *E. coli* Anwendung findet (Dean et al., 1972) ein positives Resultat gibt (Pai und Mors 1978). Die Fähigkeit zur Enterotoxinbildung ist eine an Chromosomen fixierte Eigenschaft (Gemski et al., 1980, Mors und Pai 1980, Zink et al., 1980, Vesikari et al., 1981). Das Enterotoxin, dessen Molekulargewicht mit 9.000 bestimmt wurde, wirkt immunogen und erweist sich gegenüber proteolytischen Enzymen als resistent (Okamoto et al., 1981). Seine Aktivität wird durch Temperaturbehandlung in einem Bereich von -40°C (5-monatige Lagerung) bis 121°C (20 Minuten) ebensowenig beeinflusst wie durch eine Änderung des pH-Wertes in einem Bereich von pH 1 bis pH 11 (Boyce et al., 1979, Okamoto et al., 1980).

Das Toxin, das über zellwandständige Rezeptoren im Darm das aktive Transportsystem für Na^{+} und Cl^{-} Ionen derart beeinflusst, daß es zu einer Flüssigkeitsansammlung im Darmlumen kommt (Rao et al., 1979, Robins-Browne et al., 1979), wird von Ausnahmen abgesehen (Kapperud 1980 a, Kapperud et al., 1980, Kapperud und Langeland 1981), nur bei Temperaturen unter 30°C und nicht bei 37°C gebildet (Pai und Mors 1978, Feeley et al., 1979, Olsson et al., 1980, Okamoto et al., 1980, Pai et al., 1980, Schiemann 1981). In Einzelfällen konnte auch das hitzestabile Enterotoxin nach Anzucht in Flüssignährmedien bei Kühltemperaturen ($3 - 6^{\circ}\text{C}$) nachgewiesen werden (Francis et al., 1980, Kapperud und Langeland 1981).

Enterotoxinbildung ist überwiegend bei Stämmen humanpathogener Serotypen zu beobachten (Pai et al., 1978). Aller-

dings werden auch bei diesen nicht toxinbildende Stämme angetroffen, so daß die Bedeutung des hitzestabilen Enterotoxins als wichtiger Faktor für die Pathogenese der *Yersinia enterocolitica* Infektion fraglich ist (Pai und Mors 1978, Pai et al., 1978, Mors und Pai 1980, Kapperud 1980 a, Okamoto et al., 1980, Olsson et al., 1980, Schiemann 1980, Schiemann 1981, Vesikari et al., 1981, Pai und De Stephano 1982). Auch die Tatsache, daß bei in vitro Versuchen Enterotoxinbildung bei Temperaturen über 30° C nicht nachgewiesen werden konnte und auch in vivo bisher kein Enterotoxinnachweis gelang, sprechen gegen eine Beteiligung des hitzestabilen Enterotoxins bei der Erkrankung des Menschen (Boyce et al., 1979).

In diesem Zusammenhang ist noch die Tatsache erwähnenswert, daß ein hitzelabiles Enterotoxin bislang mit den herkömmlichen Methoden (Kaninchen-Darmschlingen-Test, Wirkung auf Gewebekulturzellen : Y - 1 Nebennierenrindentumorzellen), wie sie zum Nachweis von hitzelabilem *E. coli* Enterotoxin herangezogen werden, noch nicht festgestellt werden konnte (Pai und Mors 1978, Pai et al., 1978, Robins-Browne et al., 1979).

B 2.3. Zellinvasivität

Yersinia enterocolitica ist in der Lage, die natürliche Darmepithelschranke zu überwinden und in die Darmmucosa einzudringen (Rakovsky 1973, Carter 1975, Une 1977 a, Pai et al., 1980). Um dieses Invasionsvermögen von *Yersinia enterocolitica* Stämmen bestimmen und eventuell pathogene Stämme anhand dieser Eigenschaft charakterisieren zu können, wurden zwei Verfahren entwickelt: die in vitro Bestimmung in der Zellkultur und die in vivo Bestimmung im Korneaepithel des Meerschweinchens (Sereny Test).

B 2.3.1. Zellinvasion in vitro

Die Zellinvasion in vitro wird überwiegend mittels epithelialer Zelllinien vom Menschen (HeLa, HEp-2 Zellen) und vereinzelt auch mit Schweinezelllinien (PK-15) geprüft (Une 1977 b, Pedersen et al., 1979, Portnoy et al., 1981, Vesikari et al., 1982).

Dabei erfolgt nach Infektion der Zellen mit einer Keimsuspension eine mehrstündige Inkubation. Nach weiteren Behandlungsschritten werden die Präparate fixiert, gefärbt und die Zellen lichtmikroskopisch auf eingedrungene Bakterien untersucht. Es ist möglich, die Zahl der bakterienhaltigen Zellen prozentual zu bestimmen. Dabei verhält sich die prozentuale Invasionsrate parallel zur Höhe der Infektionsdosis und kann daher eine erhebliche Schwankungsbreite bei den verschiedenen Untersuchungen aufweisen (Une 1977 b, Une et al., 1977 Maruyama et al., 1979, Soemitro et al., 1981, Vesikari et al., 1982).

Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Lee et al. (1977) an HeLa Zellen und von Portnoy et al. (1981) an HEp-2 Zellen haben gezeigt, daß die Bakterien in der Lage sind, die Zellwand zu penetrieren und somit im Zytoplasma der Kulturzellen gefunden werden. Eine Vermehrung der Bakterien im Zytoplasma scheint nach dem derzeitigen Wissensstand allerdings nicht zu erfolgen (Devenish und Schiemann 1981, Vesikari et al., 1982). Für die Penetration sind wahrscheinlich thermolabile Oberflächenfaktoren der Yersinienstämme notwendig, da sich das Invasionsvermögen der Stämme parallel zu der temperaturabhängigen Beweglichkeit der Bakterien verhält (Lee et al., 1977, Pedersen et al., 1979, Soemitro et al., 1981) und erst eine Erhitzung der Keime auf 100° C für 30 Minuten die Invasivität vollständig hemmt. Inaktivierung der Bakterien durch UV-Licht oder Formalin

beeinflusst die Invasivität dagegen nicht (Pedersen et al., 1979, Soemitro et al., 1981).

Wie Untersuchungen zeigten, verhalten sich Stämme humanpathogener Serotypen im Zellkulturtest überwiegend positiv, allerdings ist auch hier mit negativen Befunden zu rechnen (Lee et al., 1977, Une 1977 b, Une et al., 1977, Maruyama et al., 1979, Pedersen et al., 1979, Kapperud 1980 b, Mors und Pai 1980, Portnoy et al., 1981, Soemitro et al., 1981, Vesikari et al., 1981, Schiemann und Devenish 1982). Eine Möglichkeit nun positive und negative Stämme eindeutig trennen zu können, ist mit dem Einsatz der Zentrifugationsmethode gegeben (Vesikari et al., 1982). Dabei werden die Bakterien nach Beimpfung der Gewebekulturzellen durch Zentrifugieren in engeren Kontakt mit den Kulturzellen gebracht. Die weitere Behandlung bleibt im wesentlichen unverändert. Vesikari et al. (1982) konnten dabei feststellen, daß Stämme die mit der herkömmlichen Methode niedrige Invasionsraten zeigten, bei der Zentrifugationsmethode höhere Werte erreichten und sich damit eindeutig positiv verhielten. Bei negativen Stämmen wurde dagegen auch nach der Zentrifugation keine Invasion in die Kulturzellen festgestellt. Außer bei Stämmen, die den humanpathogenen Serotypen zugeordnet werden, konnte auch bei Stämmen verschiedener anderer Serotypen, deren Pathogenität und klinische Bedeutung noch unsicher bzw. unbekannt sind, eine Zellinvasion nachgewiesen werden (Une et al., 1977, Pedersen et al., 1979, Mors und Pai 1980, Soemitro et al., 1981, Schiemann und Devenish 1982).

Neben der Invasivität wurde in vereinzelten Fällen bei Stämmen der Serotypen O : 3 und O : 9 ein cytotoxischer Effekt (CPE) festgestellt (Portnoy et al., 1981, Vesikari et al., 1981, Vesikari et al., 1982). Die Bedeutung dieses Effektes ist unsicher, da nicht bekannt ist, ob

er ebenfalls in vivo auftritt. Da bisher nur plasmidtragende Stämme einen CPE zeigten, handelt es sich hierbei vermutlich um eine extrachromosomal determinierte Fähigkeit, während die Eigenschaft der Zellinvasivität auf Chromosomen genetisch fixiert ist (Lee et al., 1981, Portnoy et al., 1981, Vesikari et al., 1981, Schiemann und Devenish 1982).

B 2.3.2. Zellinvasion in vivo

Sereny (1955) entwickelte ein Testsystem, mit dem er die Invasionsfähigkeit von Shigellen in Korneaepithelzellen des Meerschweinchens überprüfen konnte. Die Inokulation eines Tropfens einer Keimsuspension von 10^9 Keimen/ml in den Bindehautsack rief bei den Tieren eine Konjunktivitis oder eine Keratokonjunktivitis hervor. Auch die Invasionsfähigkeit von *Yersinia enterocolitica* Stämmen wurde anhand dieses Tests geprüft (Feeley et al., 1979, Gemski et al., 1980, Mors und Pai 1980, Schiemann und Devenish 1980, Schiemann et al., 1981, Smith et al., 1981, Schiemann und Devenish 1982) und es wird die Vermutung geäußert, daß es sich hierbei um eine plasmidkodierte Eigenschaft handelt (Gemski et al., 1980, Zink et al., 1980). Sofern bei den Versuchstieren an der Inokulationsstelle Symptome auftreten, sind diese wesentlich milder als bei Shigellen und beschränken sich überwiegend auf eine Veränderung der Konjunktiven (Gemski 1980, Schiemann und Devenish 1980, Schiemann et al., 1981). Obwohl Stämme zahlreicher Serotypen überprüft wurden, scheint nach dem derzeitigen Erkenntnisstand nur mit dem humanpathogenen Serotyp O : 8 das Ergebnis im Sereny Test reproduzierbar zu sein, obwohl auch bei diesem Serotyp negative Stämme vorkommen (Feeley et al., 1979, Schiemann und Devenish 1980). Die humanpathogenen Stämme der Serotypen O : 3; O : 9 und O : 5,27 erwiesen sich in Untersuchungen

anderer Arbeitsgruppen überwiegend als Sereny negativ. Hierzu zählten auch Stämme, bei denen ein Plasmid festgestellt werden konnte (Pai und Mors 1978, Mors und Pai 1980, Schiemann und Devenish 1980, Smith et al., 1981, Vesikari et al., 1981).

Aufgrund der überwiegend negativen Resultate auch solcher Stämme, deren Virulenz für den Menschen als gesichert gilt, erscheint der Einsatz des Sereny Tests für die Beurteilung der Virulenz von Yersinienstämmen fraglich zu sein (Vesikari et al., 1981).

B 2.4. Autoagglutination

Die Fähigkeit verschiedener Yersinienstämme, in einem Gewebekulturmedium zu autoagglutinieren, wurde von Laird und Cavanaugh (1980) erstmalig beschrieben. Sie stellten fest, daß einige Stämme bei Anzucht in einem Zellkulturmedium und einer Bebrütungstemperatur von 37° C eine Autoagglutination zeigten, die dagegen bei einer Bebrütungstemperatur von 25° C ausblieb. Allerdings konnte die Autoagglutination, bei der es sich um eine plasmidgebundene Eigenschaft zu handeln scheint (Lee et al., 1981, Smith et al., 1981, Vesikari et al., 1981, Schiemann und Devenish 1982), auch bei Anzüchtung in anderen Kulturmedien beobachtet werden (Doyle et al., 1981, Pai und De Stephano 1982). Bei weiterer Überprüfung der Stämme verhielten sich agglutinationspositive Stämme, die überwiegend den Serotypen O : 3; O : 9; O : 8; O : 5,27 zuzuordnen waren, virulent gegenüber adulten Mäusen, wie im Mausdiarrhoe-Modell gezeigt werden konnte (Laird und Cavanaugh 1980, Doyle et al., 1981, Schiemann 1981, Schiemann et al., 1981, Vesikari et al., 1981, Schiemann und Devenish 1982, Stern und Damarè 1982).

B 2.5. Bildung von V- und W-Antigenen und ihre Calciumabhängigkeit

Eine wichtige Komponente der Virulenz von *Yersinia pestis* und *Yersinia pseudotuberculosis* ist die Fähigkeit, einen V-W Antigenkomplex zu bilden (Burrows 1956, Burrows und Bacon 1958, Lawton et al., 1963, Brubaker 1972). Dieser Antigenkomplex besteht aus einem Protein- (V) mit einem Molekulargewicht von 90.000 und einem Lipoprotein-Anteil (W) mit einem Molekulargewicht von 145.000 (Lawton et al., 1963). Es stellt einen Schutz gegenüber Phagocytose durch neutrophile Leukozyten dar und ermöglicht das Überleben der Keime sowie eine intracelluläre Vermehrung in Makrophagen (Carter et al., 1980, Gemski et al., 1980). Die Fähigkeit zur Bildung des V-W Antigenkomplexes, die an ein Plasmid gebunden ist, wurde auch bei *Yersinia enterocolitica* nachgewiesen (Carter et al., 1980, Gemski et al., 1980). Die Ausbildung des Antigenkomplexes erfolgt nur bei Bebrütungstemperaturen um 37°C unter aeroben Bedingungen in einem komplexen calciumarmen Medium mit einer Magnesiumkonzentration von 20 mM (Lawton et al., 1963, Brubaker und Surgalla 1964). Diese Versuchsbedingungen wirken allerdings in vitro auf die V-W antigenkomplex tragenden Stämme ($V_{\text{wa}+}$) bakteriostatisch. Keine Wachstumsbeeinflussung wird beobachtet bei Raumtemperaturen oder bei Stämmen, die diesen V-W Antigenkomplex ($V_{\text{wa}-}$) nicht aufweisen, unabhängig von der Bebrütungstemperatur (Higuchi et al., 1959, Higuchi und Smith 1961, Lawton et al., 1963, Brubaker und Surgalla 1964, Carter et al., 1980, Gemski et al., 1980).

Anhand der Ergebnisse verschiedener Untersuchungen über die Calciumabhängigkeit virulenter Stämme bei 37°C (Kupferberg und Higuchi 1958, Higuchi et al., 1959) entwickelten Higuchi und Smith (1961) ein Differenzie-

rungsmedium, das zum Nachweis V_{wa+} bzw. V_{wa-} Stämme dient. Es handelt sich hierbei um einen Nährboden, dem durch Zusatz von Natriumoxalat freie Calciumionen entzogen werden und dem Magnesiumionen zugesetzt werden. Die Bebrütung dieses Magnesiumoxalat-Agars (MOX-Agar) erfolgt bei 37°C . V_{wa+} Stämme zeigen kein Wachstum, während V_{wa-} Stämme nicht gehemmt werden. Es ist daher möglich, mit Hilfe dieses Agars eine gezielte Selektion von V_{wa-} Mutanten vorzunehmen. Wird dagegen dem Medium Calcium in einer Konzentration von 2,5 mM zugesetzt, eine Konzentration, die der in der interstitiellen Flüssigkeit entspricht, wird diese Wachstumshemmung jedoch durchbrochen (Higuchi et al., 1959), es kommt aber nicht zur Ausbildung des V-W Antigenkomplexes (Brubaker und Surgalla 1964).

Über die nachgewiesene Calciumabhängigkeit eines Teststammes kann nicht nur auf die Anwesenheit des V-W Antigens, dessen Nachweis ebenfalls über die Präzipitationsreaktion im Agardiffusionstest erfolgen kann (Lawton et al., 1963, Carter et al., 1980), sondern vermutlich auch auf die Anwesenheit des Plasmids geschlossen werden (Gemski et al., 1980, Schiemann und Devenish 1980, Portnoy et al., 1981, Schiemann et al., 1981, Smith et al., 1981, Stern und Damaré 1982).

B 2.6. Vorkommen von Plasmiden

Plasmide wurden zuerst bei für den Menschen pathogenen Stämmen entdeckt. So können Stämme der Serotypen O : 3; O : 9 und O : 8 Plasmide aufweisen, deren Molekulargewicht zwischen 36 und 48 Mdal liegt (Gemski et al., 1980, Zink et al., 1980, Lee et al., 1981, Portnoy et al., 1981, Smith et al., 1981, Vesikari et al., 1981). Der Nachweis dieser Plasmide kann entweder direkt mit Hilfe der

Agarose-Gel-Elektrophorese (Meyers et al., 1976, Hansen und Olsen 1978, Kado und Lui 1981) oder indirekt durch den Nachweis des V-W Antigenkomplexes mit Hilfe des MOX-Agars oder der Autoagglutinationsreaktion erfolgen (Gemski et al., 1980, Schiemann und Devenish 1980, Portnoy et al., 1981, Schiemann et al., 1981, Smith et al., 1981, Stern und Damaré 1982). Apathogene Stämme scheinen nach dem derzeitigen Erkenntnisstand keine Plasmide aufzuweisen oder aber Plasmide zu besitzen, deren Molekulargewichte (< 35 Mdal, > 70 Mdal) mit denen der humanpathogenen Stämme nicht vergleichbar sind (Portnoy et al., 1981, Smith et al., 1981, Vesikari et al., 1981).

B 2.7. Makrophagenvirulenztest

Peritonealmakrophagen von Kaninchen werden in Kulturröhrchen angezüchtet und mit 2 ml einer Bakteriensuspension von ca. 10^4 Keimen/ml für 90 Minuten bei 37° C inkubiert. Nach diesem Zeitraum werden extracellulär liegende Bakterien durch mehrere Waschvorgänge entfernt und die Makrophagen mit frischem Erhaltungsmedium weiter inkubiert. In verschiedenen Zeitabständen werden Proben entnommen, die Makrophagen durch Behandlung mit destilliertem Wasser zerstört und die Zahl der so freigesetzten Bakterien quantitativ kulturell ermittelt. Bestimmt wird nun die Zahl der vermehrungsfähigen phagozytierten Keime, die sich aus dem Verhältnis der Ausgangskeimzahl und der ermittelten Endkeimzahl ergibt. Es konnte festgestellt werden, daß sich pathogene Stämme vom Serotyp O : 3 und O : 9 in den Makrophagen vermehren können, apathogene Stämme dagegen nicht (Une 1977 b, Une und Zen-Yoji 1979).

B 2.8. Resistenz gegenüber Normalserum

Da auch die Resistenz von Bakterien gegenüber Normalserum als ein Zeichen von Virulenz gewertet wird (Niléhn 1973), wurden verschiedene *Yersinia enterocolitica* Stämme diesem Test unterzogen (Niléhn 1973, Pai und De Stephano 1982). Hierbei werden die Bakterien nach Anzüchtung bei 25° C und 37° C in Keimzahlen von ca. 10^7 /ml in einem Medium, das 10 % Normalserum enthält, suspendiert und bei 37° C inkubiert. Nach verschiedenen Zeitintervallen werden Keimzahlbestimmungen vorgenommen. Die Versuche ergaben, daß pathogene Stämme vom Serotyp O : 3 sich nach Anzüchtung bei einer Temperatur von 37° C als serumresistent erweisen. Dieses Phänomen konnte nach Anzüchtung der Stämme bei 25° C nicht beobachtet werden. Bei apathogenen Stämmen wurde infolge der bakteriziden Wirkung des Serums, die unabhängig von der Bebrütungstemperatur war, eine Keimzahlreduktion beobachtet. Nach Ansicht von Pai und De Stephano (1982) könnte das Resistenzverhalten pathogener Stämme gegenüber Normalserum an das Vorhandensein eines Plasmids gebunden sein.

B 3. KULTURELLER NACHWEIS VON *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

Eine Direktkultivierung von *Yersinia enterocolitica* auf festen Selektivmedien, insbesondere aus Lebensmittel- und Wasserproben, hat sich zur Isolierung dieses Keimes nicht bewährt, da der Nachweis aufgrund der geringen Keimzahlen in den Proben ohne Anreicherung kaum gelingt. Einen Überblick über verschiedene Anreicherungsmedien, die zum Yersiniennachweis eingesetzt werden, gibt die Tabelle 5. Zwischen den einzelnen Sero- und Biotypen bestehen offensichtlich Unterschiede hinsichtlich ihrer Wachstumsanforderungen an das Kulturmedium. Daher werden üblicherweise mindestens zwei in ihrer Zusammensetzung unterschiedliche Anreicherungsmedien verwendet. Aus den gleichen Gründen empfiehlt sich zur anschließenden Kultivierung auf Festnährböden auch der Einsatz von Nährböden verschiedener Zusammensetzung (Niléhn 1969, Lee 1977 a, b; Schiemann und Toma 1978, Stern und Oblinger 1980, Stern 1981, Weber und Lembke 1981 b).

Aufgrund des Verhaltens von Yersinienstämmen gegenüber Hemmstoffen und Antibiotika werden Anreicherungsmedien mit und ohne Zusatz derartiger Substanzen mit unterschiedlichem Erfolg eingesetzt. So sind z.B. das modifizierte Rappaport Medium mit Carbenicillin oder die Selenit Bouillon mit Novobiocin für den Nachweis resistenter Stämme, wie z.B. der Serotypen O : 3 und O : 9, gut geeignet. Stämme anderer Serotypen, insbesondere der humanpathogene Serotyp O : 8, haben sich gegenüber diesen Zusätzen als sensitiv erwiesen (Wauters 1973, Lee 1977 b, Van Noyen et al., 1980). Daher ist die Isolierung derartiger hemmstoff- und antibiotikaempfindlicher Stämme schwierig und gelingt meist nur über eine Anreicherung in einem nicht selektiven Medium wie beispielsweise phosphatgepufferter Kochsalzlösung (Lee 1979). Um bei diesem Medium

die kompetetive Begleitflora zu unterdrücken, wird die Fähigkeit von *Yersinien*stämmen, sich auch bei Kühltemperaturen vermehren zu können, zur Anzüchtung eingesetzt. Die Anreicherung erfolgt über einen Zeitraum von mehreren Wochen bei 4° C. Darüber hinaus eignet sich nach Angaben von Stern und Oblinger (1980) auch das von Lee et al. (1980) entwickelte modifizierte Selenit Medium für den Nachweis des Serotyps O : 8.

Bevor die Abimpfung aus den Anreicherungsmedien auf Festnährboden erfolgt, kann noch die von Aulisio et al. (1980) beschriebene Alkalibehandlung des Anreicherungsmediums vorgenommen werden, mit deren Hilfe der Nachweis von *Yersinia enterocolitica* erleichtert werden soll. So beobachteten Aulisio et al. (1980), daß sich *Yersinien*stämmen im Vergleich zur kompetetiven Begleitflora alkalitolerant verhielten. Sie vermischten eine Öse beimpften Anreicherungsmediums mit 0,5 %iger KOH Lösung und strichen das Material dann auf eine MacConkey Platte aus. Auf diese Art konnte ein großer Anteil der Begleitflora unterdrückt werden. Allerdings muß wohl auch mit dem Vorkommen alkaliempfindlicher *Yersinia enterocolitica* Stämme gerechnet werden, da Stern und Oblinger (1980) bei ihren Untersuchungen ohne zusätzliche Alkalibehandlung eine höhere Isolierungsrate erzielten.

Für die Anzüchtung auf festen Nährböden werden zahlreiche in der Enterobacteriaceen-Diagnostik verwendete Medien benutzt wie Drigalski-Agar, Lysin-Saccharose-Urease-Agar, Salmonellen-Shigellen-Agar und MacConkey-Agar. Speziell für den *Yersiniennachweis* entwickelte Nährböden sind in der Tabelle 6 zusammengestellt.

B 4. VORKOMMEN VON *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

B 4.1. *Yersinia enterocolitica* beim Menschen Erkrankungsbild und Verbreitung

Die Yersiniose tritt sowohl als Spontanerkrankung bei Einzelpersonen wie auch als Familienerkrankung auf. Darüber hinaus wird über zahlreiche Massenerkrankungen in verschiedenen Ländern berichtet (Tabelle 7).

Infektionen mit *Yersinia enterocolitica* zeigen sich unter den klinischen Symptomen einer akuten oder subakuten Enteritis oder Enterocolitis mit und ohne Fieber. Auch können die Krankheitssymptome denen einer Appendicitis, mesenterialen Lymphadenitis oder akuten terminalen Ileitis ähneln. Gelegentlich sind kolikartige Bauchbeschwerden ohne Diarrhoe, mehrtägiges Fieber, Tonsillitis, Pharyngitis oder grippeähnliche Symptome die einzigen Krankheitserscheinungen. Beobachtungen zeigen, daß das klinische Bild im Zusammenhang mit dem Alter der Patienten variiert (Tabelle 8).

Septische Verlaufsformen bei *Yersinia enterocolitica* Infektionen, mit einer Letalität von 30 % bis 40 %, sind selten. Sie werden als schwere Komplikationen vor allem bei Patienten beobachtet, bei denen Grundkrankheiten wie Diabetes, Leberzirrhose und Leukämie bestehen oder die mit Immunsuppressiva behandelt werden (Knapp 1980, Strobel 1980). Die meisten akuten Erkrankungen sind zeitlich begrenzt und dauern zwischen 2 bis 3 und 14 Tagen an. In über 10 % der Fälle treten Komplikationen ein, von denen Arthritiden und Erythema nodosum am häufigsten anzutreffen sind (Larsen 1979). Erythema nodosum nimmt bei der Yersiniose eine besondere Stellung

ein, da nur diese Erkrankung eine deutliche Alters- und Geschlechtsdisposition aufweist (Bottone 1977, Vandepitte et al. 1979, Knapp 1980). In ca. 80 % der Fälle sind Frauen über 40 Jahre betroffen.

Selten beschriebene Komplikationen sind Myo- und Pericarditis, Glomerulonephritis, Konjunktivitis, Hepatitis und Urethritis (Larsen 1979).

Knapp und Weber (1982) vertreten die Ansicht, daß die humanpathogenen Stämme von *Yersinia enterocolitica* O : 3 und O : 9 für gesunde Menschen wenig infektiös und für latent oder manifest resistenzgeminderte Personen fakultativ pathogene Krankheitserreger sind.

Die Infektion erfolgt in der Mehrzahl der Fälle auf oralem Weg (Gutmann et al., 1973, Toma und Deidrick 1975, Hurvell 1978, Leemann 1979, Knapp 1980, Primavesi 1980). Allerdings wird auch eine aerogene Übertragung diskutiert (Toma und Deidrick 1975). Die Verbreitung des Keimes erfolgt wahrscheinlich über Haus- und Schlachttiere und direkt von Mensch zu Mensch, wobei menschliche Ausscheider mit und ohne klinische Symptome als Infektionsquelle in Frage kommen (Gutmann et al., 1973, Rakovsky et al., 1973, Toivanen et al., 1973, Kist et al., 1980, Knapp 1980, Weber und Lembke 1980 a, Knapp und Weber 1982).

In Einzelfällen kann die Infektion über infizierte Lebensmittel ihren Ausgang nehmen. So stellt Schokoladenmilch wahrscheinlich eines der wenigen Lebensmittel dar, daß bei einem dokumentierten Ausbruch einer Yersiniose erwiesenermaßen eine Rolle spielte (Black et al., 1978). An einer Schule in New York erkrankten eine größere Anzahl von Schülern nach Verzehr von Schokoladenmilch. Bei den bakteriologischen Untersuchungen wurde sowohl bei den

Kindern als auch in dem Milcherzeugnis der Serotyp O : 8 nachgewiesen. Epidemiologische Untersuchungen ergaben, daß Schokoladensirup manuell zu pasteurisierter Milch zugegeben worden war und daß dabei die Kontamination erfolgte. Das fertige Getränk war ohne zusätzliche Pasteurisierung in Kartons abgefüllt und verschlossen worden. Christensen (1979) beschreibt einen Krankheitsfall bei einem 8 Monate alten Kind, bei dem eine Yersiniose diagnostiziert wurde. Weiterführende Untersuchungen ergaben, daß Quellwasser, das die alleinige Wasserversorgung für den Haushalt darstellte, Yersinien des Serotyps O : 3 Biotyp 4 enthielt. Dieses kontaminierte Wasser war zur Zubereitung von Babynahrung benutzt worden. Von einer gastrointestinalen Massenerkrankung in einem Skiort in Montana berichten Eden et al. (1977, Tabelle 7). Aus dem unchlorierten Trinkwasser (Quellwasser) wurde *Yersinia enterocolitica* isoliert. Die bakteriologische Untersuchung von Stuhlproben verschiedener Patienten verlief allerdings negativ. Inwieweit Wasser auch bei anderen Erkrankungsausbrüchen (Tabelle 7) eine Rolle spielte, ist ungeklärt.

Über die notwendige Infektionsdosis gibt es nur wenige Anhaltspunkte. So konnten aus Rohmilch, deren Verzehr vermutlich bei 138 Personen eine Yersiniose hervorgerufen hatte, $4,6 \times 10^4$ Keime/ml isoliert werden (Food-borne and Water-borne disease in Canada, Annual Summary 1975). Allerdings waren die aus der Milch und aus den Stuhlproben der Patienten isolierten Serotypen nicht identisch (Tabelle 7), so daß der Infektionsweg nicht eindeutig geklärt werden konnte. Ein Selbstversuch wurde von einem Mitarbeiter von Szita et al. (1973) vorgenommen. Nach der oralen Aufnahme von $3,5 \times 10^9$ Keimen, traten noch am gleichen Tag klinische Symptome auf. Ansonsten gibt es auch bezüglich der Inkubationszeit

noch keine gesicherten Erkenntnisse. Aufgrund epidemiologischer Untersuchungen wird ein Zeitraum von 2 bis 10 Tagen angenommen (Toivanen et al., 1973, Keet 1974, Kist et al., 1980).

Aufgrund der Literaturangaben scheinen *Yersinia* Infektionen gegenwärtig weltweit verbreitet zu sein. Neben Berichten über den Nachweis in zahlreichen europäischen Ländern hat man diesen Erreger auch in Asien, Amerika und in Australien gefunden. Die in den letzten Jahren zunehmende Häufigkeit der Isolierung ist sicherlich nicht darauf zurückzuführen, daß sich die Erkrankung erst in neuerer Zeit ausgebreitet hat, vielmehr muß man davon ausgehen, daß bei den bislang üblichen bakteriologischen Verfahren *Yersinien* nicht erfaßt wurden. Manche bakteriologisch nicht abgeklärte Enteritis, in der Vergangenheit oft voreilig als "Viruserteritis" bezeichnet, dürfte eine *Yersiniose* gewesen sein (Primavesi 1980).

Die Untersuchung von Stuhlproben an Enteritis erkrankter Patienten geben einen Hinweis auf die Verbreitung dieses Erregers beim Menschen. So dürfte der Anteil von *Yersinia enterocolitica* als Enteritiserreger entsprechend der Ergebnisse heute angewandter Isolierungsmethoden weltweit zwischen 1 und 4 % liegen. In manchen Gebieten ist die Isolierungsrate ähnlich hoch wie die der *Salmonellen* und deutlich höher als die der *Shigellen* (Esseveld und Goudzwaard 1973, Toma und Lafleur 1974, Bockemühl et al., 1978, Van Noyen et al., 1979, Wuthe et al., 1982). Nach Knapp und Weber (1982) nehmen Infektionen mit *Yersinia enterocolitica* unter den bakteriellen Darminfektionen (*Salmonellosen*, *Shigellosen*, *Campylobakteriose*, enterotoxische Kolinfektion) wahrscheinlich den zweiten oder dritten Platz ein. So stellten Bockemühl et al. (1978) bei 7.054 Enteritis-Patienten in 5,9 % der Fälle bakterielle Erreger fest.

Dabei wurden Salmonellen mit 4,3 % am häufigsten nachgewiesen, gefolgt von *Yersinia enterocolitica* mit 1,5 %. Zahlenmäßig unbedeutend war der Nachweis von Shigellen mit einem Anteil von 0,1 %. Stoll (1981) konnte bei seinen Untersuchungen *Yersinia enterocolitica* in 0,5 % der untersuchten Stuhlproben nachweisen. Bei serologischen Untersuchungen von Blutproben menschlicher Patienten mit klinischem Verdacht einer *Yersinia* Infektion wurden Antikörper gegen den Serotyp O : 3 in 3,9 % und gegen den Serotyp O : 9 in 5,03 % der Fälle ermittelt. Wuthe et al. (1982) berichten über eine Isolierungsrate von 1,66 % aus Faecesproben enteritis-erkrankter Personen. Im Bereich der praktischen Seuchenhygiene kommt somit dem *Yersiniennachweis* durchaus eine große Bedeutung zu (Primavesi 1980).

Darüber hinaus wird aber auch über den Nachweis von *Yersinia enterocolitica* O : 3 und O : 9 Stämmen bei gesunden Menschen berichtet. So konnten Van Noyen et al. (1979), Vandepitte und Wauters (1979) und Wuthe et al. (1982) bei ihrem Patientenmaterial bis zu 2,7 % gesunde Ausscheider des Serotyps O : 3 bzw. O : 9 feststellen. Die Bedeutung dieser gesunden Ausscheider für die Verbreitung der Yersiniose kann derzeit noch nicht sicher beurteilt werden.

B 4.2. Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* bei Tieren

B 4.2.1. Vorkommen bei Rindern

Über das Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* bei Rindern gibt die Tabelle 9 Auskunft. Danach gelang der Nachweis in 15 von insgesamt 2.033 Kotproben (0,7 %). Von den humanpathogenen Stämmen wurde der Serotyp O : 3 nur ein-

mal isoliert. Aufgrund dieser Untersuchungsergebnisse wird den Rindern als Erregerreservoir für humanpathogene *Yersinia enterocolitica* Stämme keine besondere Rolle beigemessen.

B 4.2.2. Vorkommen bei Schweinen

Für den Menschen pathogene Stämme sind in größerer Zahl bei gesunden Schweinen nachgewiesen worden. Beim Schwein waren die ersten Untersuchungen an Mesenteriallymphknoten (Tabelle 10) und an Kotproben (Tabelle 11) durchgeführt worden. In Mesenteriallymphknoten wurden bei 7 von insgesamt 1.290 (0,5 %) Proben *Yersinia enterocolitica* Stämme nachgewiesen, wobei 5 der Isolate den Serotypen O : 3 oder O : 9 zuzuordnen waren. Faßt man dagegen die durch Untersuchungen von Schweinefaeces erzielten Ergebnisse zusammen, so wurden bei einer Gesamtzahl von 14.471 untersuchten Proben in 1.085 Proben (7,5 %) *Yersinia* Stämme nachgewiesen. Die Angaben über positive Funde schwanken bei den einzelnen Autoren zwischen 0 % und 42,8 %. Besonders auffällig ist, daß im Vergleich zu den Isolierungsergebnissen aus Kotproben anderer Tierarten beim Schwein die Serotypen O : 3 und O : 9 besonders häufig vorkommen. So enthielten 420 von 1.085 positiven Proben (38,7 %) diese beiden Serotypen.

Die Bedeutung des Schweines als Keimreservoir für die Serotypen O : 3 und O : 9 wird durch die an Schweinentonsillen durchgeführten Untersuchungen noch deutlicher, wie die Tabelle 12 zeigt. Bei 1.844 untersuchten Tonsillen gelang in 283 Fällen (15,3 %) der Nachweis von *Yersinia enterocolitica*. Allerdings schwankte der Prozentsatz der positiven Proben bei den verschiedenen Autoren zwischen 1,0 % und 30,0 %. Dabei waren 247 Stämme dem Serotyp O : 3 und 28 Stämme dem Serotyp O : 9 zuzuordnen. 8 Isolate

erwiesen sich als Serotyp O : 5.

Aus den Ergebnissen der referierten Untersuchungen, die Auskunft über die Isolierung von *Yersinia enterocolitica* aus Tonsillen geben, kann geschlossen werden, daß *Yersinia enterocolitica* als ein normaler Bestandteil der bakteriellen Mundhöhlenflora des Schweines anzusehen ist (Pedersen 1979, Wauters 1979). Ob die Erreger für Schweine pathogen sind, ist noch nicht eindeutig geklärt (Pedersen 1979). So berichten Esseveld und Goudzwaard (1973), daß aus 641 Faeces- und Blutproben von Tieren, die an einer Diarrhoe litten, bei 53 der Nachweis von *Yersinia enterocolitica* Serotyp O : 3 (39 mal) und der Serotyp O : 9 (14 mal) gelang.

Christensen (1980 b) vermutet einen Zusammenhang zwischen der Art der Tierhaltung und der Häufigkeit des Vorkommens von *Yersinia enterocolitica* auf Tonsillen. Bei 99 Schlachtschweinen, die aus SPF (specific-pathogen-free) Herden stammten, gelang ihm der Nachweis des Serotyps O : 3 nur einmal (1,0 %), dagegen wurde in anderen Tierbeständen der Erreger bei 6,7 % bis 49,4 % der untersuchten Tonsillen gefunden. Ob die Tiere den Keim über Futter oder Wasser aufgenommen hatten, konnte nicht geklärt werden. Die gleichzeitige Überprüfung von Futter- und Wasserproben verlief negativ.

Nach Angaben von Aldova et al. (1980) besteht eine Korrelation zwischen *Yersinien*-funden in Schweinehaltungen und den hygienischen Zuständen der Betriebe. Während in einem Betrieb mit hohem Hygienestandard bei 44 Ferkeln keinmal der Serotyp O : 3 nachgewiesen wurde, gelang der *Yersiniennachweis* bei 6 von 14 Ferkeln einer weniger gut geführten Schweinehaltung.

Verschiedene Autoren fanden eine jahreszeitliche Abhängigkeit in der Häufigkeit der Isolierung von *Yersinien* aus Kotproben. Während der Sommermonate durchgeführte Untersuchungen ergaben keine oder nur eine geringe Zahl positiver Proben, während in den Wintermonaten ein deutlicher Anstieg der Isolierungsrate zu verzeichnen war (Zen-Yoji et al., 1974, Toma und Deidrick 1975, Tsubokura et al., 1976, Bockemühl et al., 1979, Weber und Lembke 1981 a). Dagegen scheint die Isolierung der Erreger aus Schweinetoisillen während des ganzen Jahres möglich zu sein (Weber und Knapp 1981, Weber und Lembke 1981 b).

Wie bereits ausgeführt, wird beim Schwein auch der Serotyp O : 9 festgestellt (Esseveld und Goudzwaard 1973, Bockemühl und Roth 1978, Bockemühl et al., 1979, Wauters 1979, Nattermann et al., 1980, Weber und Knapp 1981, Weber und Lembke 1981 a,b). Diese Serogruppe kommt außer beim Menschen praktisch nur beim Schwein vor, von Ausnahmen abgesehen (Ahvonen et al., 1973, Esseveld und Goudzwaard 1973). Ihr Nachweis ist insofern von Bedeutung, als daß serologische Kreuzreaktionen zwischem dem Serotyp O : 9 und *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* und *Brucella suis* auftreten (Ahvonen et al., 1969, Hurvell et al., 1971, Hurvell 1972, Hurvell und Lindberg 1973, Nattermann et al., 1980). Dies hat zu falsch positiven Ergebnissen bei der Brucellen-Serodiagnostik geführt. So berichten Esseveld und Goudzwaard (1973) sowie Bockemühl und Roth (1978) von Schweinebeständen, bei denen aufgrund der serologischen Untersuchungsergebnisse der Verdacht auf *Brucella*-Infektion gegeben war. Während die bakteriologische Untersuchung auf *Brucella suis* jeweils negativ verlief, konnte dagegen bei 13,7 % (Esseveld und Goudzwaard 1973) bzw. bei 12,4 % (Bockemühl und Roth 1978) der Tiere *Yersinia enterocolitica* Serotyp O : 9

nachgewiesen werden.

Die bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse lassen die Schlußfolgerung zu, daß Schweine ein wichtiges Keimreservoir für *Yersinia enterocolitica*, insbesondere der humanpathogenen Stämme, darstellen (Wauters 1979). Eine zufriedenstellende Erklärung, weshalb gerade beim Schwein die humanpathogenen Stämme häufiger nachgewiesen werden, konnte bislang nicht gegeben werden. Interessant sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse von Bockemühl et al. (1979) die feststellten, daß die vom Menschen und vom Schwein isolierten Stämme der Serotypen O : 3 und O : 9 sich auch in der Phagentypisierung glichen.

B 4.2.3. Vorkommen bei Hunden und Katzen

Wegen der engen Kontaktmöglichkeiten von Hund und Katze mit Menschen wurden von verschiedenen Autoren Untersuchungen durchgeführt, die über Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* bei diesen Tieren (Tabelle 13 und 14) Aufschluß geben sollten. Wie die Ergebnisse zeigten, gelang der Nachweis jedoch nur vereinzelt. So wurden aus insgesamt 1.627 Hundefaecesproben 37 Stämme (2,3 %) isoliert, wobei 20 Isolate dem Serotyp O : 3 oder O : 9 angehörten. Aus 870 untersuchten Katzenfaecesproben gelang der Nachweis sogar nur 16 mal (1,8 %). 12 Stämme wurden entweder als Serotyp O : 3 oder O : 9 identifiziert. Erwähnenswert sind die Untersuchungsergebnisse von Szita et al. (1980). Sie konnten bei 6 von 13 Katzen (46,2 %) *Yersinia enterocolitica* nachweisen. Die Tiere stammten aus Familien, bei denen Yersiniose aufgetreten war. Allerdings ergaben die Untersuchungen keinen Hinweis darauf, daß die Katzen als Keimreservoir in Frage kamen.

Eine besondere Rolle bei der Epidemiologie der *Yersinia enterocolitica*-Infektion des Menschen, dürften diese Haustiere aufgrund der von ihnen gewonnenen geringen Isolierungsrate humanpathogener Stämme demnach nicht spielen.

B 4.2.4. Vorkommen bei anderen Tierarten

Wegen einer möglichen Kontamination von Nahrungsmitteln mit *Yersinia enterocolitica* durch Ratten und mäuseartige Nager (Zen Yoji et al., 1974, Kapperud 1975, Aldova et al., 1977, Kaneko et al., 1978, Aldova und Láznicková 1979, Aldova et al., 1980) sowie Fliegen (Fukushima et al., 1979) wurden diese Tierarten von den genannten Autoren untersucht.

Bei Nagetieren gelang der Nachweis von *Yersinia enterocolitica* recht häufig. So konnten Zen Yoji et al. (1974) aus 58 von 165 (35,2 %) und Kaneko et al. (1978) aus 56 von 270 (20,7 %) Nagern *Yersinia enterocolitica* isolieren. Neben verschiedenen, nach dem derzeitigen Wissensstand für den Menschen nicht pathogenen Serotypen und serologisch nicht typisierbaren Stämmen, wurden auch die Serotypen O : 3 (2 mal) und O : 9 (1 mal) gefunden. Aldova et al. (1977) isolierten aus 178 Ratten 30 *Yersinien*stämme (16,8%). 16 dieser Stämme identifizierten sie als Serotyp O : 3. Da dieser Serotyp nur bei Ratten vorgefunden wurde, die aus Schweineställen stammten, vermuten die Autoren einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten des Serotyps O : 3 bei Ratten und deren Aufenthalt in unmittelbarer Nähe von Schweinen. Spätere Untersuchungen von Aldova et al. (1980) bestätigten diese Vermutung, denn die Autoren konnten keine humanpathogenen Serotypen bei Nagern nachweisen, die außerhalb von Schweinehaltungen und Schlachthäusern

gefangen worden waren. Sie sind der Ansicht, daß Schweine das Keimreservoir für Nager darstellen.

Yersinia enterocolitica wurde von Fukushima et al. (1979) auch aus Fliegen isoliert, die in Schweineställen und in der Küche eines Schweinezuchtbetriebes gefangen worden waren. Aus 738 Proben (10 bis 20 Fliegen je Probe) gelang die Isolierung von 50 *Yersinia enterocolitica* Stämmen, von denen aber nur 3 dem Serotyp 0 : 3 Biotyp 4 zugeordnet werden konnten. Nach Ansicht der Autoren sind Schweine das Ausgangsreservoir für diesen Serotyp. Bei parallel durchgeführten Untersuchungen von Schweinefaeces gelang die Isolierung des Serotypes 0 : 3 ebenfalls.

Darüber hinaus wird auch über den erfolgreichen *Yersinia enterocolitica* Nachweis bei anderen Tieren (Pferd, Schaf, Ziege, Affen, Hase, Rehwild, Chinchilla, Vogel, Schlangen, Frösche u.a.) berichtet. Das WHO Reference Center für *Yersinia enterocolitica* (Mollaret et al., 1979) hat eine Zusammenstellung der Tierspecies, die bisher als Keimträger für *Yersinia enterocolitica* erkannt wurden, veröffentlicht. Da es sich hierbei überwiegend um Einzelbefunde handelt, dürfte diesen Tieren keine bedeutende Rolle in der Epidemiologie zuzuordnen sein.

B 4.3. Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* in Lebensmitteln

B 4.3.1. Vorkommen in Fleisch und Fleischerzeugnissen

In der Tabelle 15 sind Angaben über das Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* sowie *Yersinia enterocolitica*-ähnlichen Stämmen in Fleisch von Rind, Lamm, Geflügel

und Schwein zusammengestellt.

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß der Prozentsatz der positiven Proben bei Rind-, Lamm- und Geflügelfleisch zwischen 0 % und 28,9 % schwankt. Serotypen, die als Krankheitserreger beim Menschen bekannt sind, kamen nur selten vor. So konnte der Serotyp O : 3 nur einmal aus Rindfleisch isoliert werden. Der Serotyp O : 9 war in keiner Probe nachweisbar.

Die Isolierungsraten aus Schweinefleisch schwanken zwischen 0 % und 64,8 %. Hier wurde der Serotyp O : 3 im Vergleich zu den o.g. Untersuchungen mehrfach isoliert. Es muß aber bei diesen Proben eine deutliche Kennzeichnung der Probenart erfolgen, um eine Bewertung der Untersuchungsergebnisse zu ermöglichen. So wiesen insbesondere Schweineezungen diesen Serotyp häufiger auf. Über die Isolierung des Serotyps O : 9 berichteten nur zwei Literaturstellen. So gelang der Nachweis aus 163 Schweinelebern einmal (Narucka und Westendorp 1977) und auf 302 Zungen dreimal (Wauters 1979). Die hohe Nachweisrate humanpathogener Stämme auf Schweineezungen erklärt sich aus der Tatsache, daß *Yersinia enterocolitica* ein normaler Bestandteil der bakteriellen Mundhöhlenflora des Schweines ist (Pedersen 1979, Wauters 1979). Dies stellt aber sicherlich keine direkte Gefährdung des Menschen dar, da ein Rohverzehr von Zungen wie auch von Leber, nicht stattfindet. Für eine direkte Übertragung kann nur Fleisch, das zerkleinert, wie z.B. Hackfleisch, zum Rohverzehr geeignet ist, in Frage kommen.

In den einzelnen Fällen ist drüber hinaus auch mit dem Vorkommen der humanpathogenen Serotypen O : 8 und O : 5,27 im Fleisch zu rechnen. Der überwiegende Teil der nachgewiesenen *Yersinia enterocolitica* Stämme war

aber Serotypen zuzuordnen, die entweder bisher überhaupt noch nicht im Zusammenhang mit einer Erkrankung des Menschen festgestellt worden waren oder nur in vereinzelten Fällen mit einer Erkrankung in Verbindung gebracht werden konnten. So waren zwei der von Hanna et al. (1976) aus vakuumverpackten Fleisch isolierten Stämme demselben Serotyp O : 17 zuzuordnen, den Bottone et al. (1974) aus klinischem Untersuchungsmaterial vom Menschen isoliert hatte.

Die Tatsache, daß offenbar mit dem Vorkommen von humanpathogenen *Yersinia enterocolitica* Stämmen in Schweinefleisch häufiger zu rechnen ist als im Fleisch anderer Tierarten, ist sicherlich im Zusammenhang mit dem überdurchschnittlich häufigen Vorkommen dieser Erregerart beim Schwein zu sehen, wie zahlreiche Untersuchungen von Faeces- und Tonsillenproben gezeigt haben (Tabelle 11 und 12). Zur Kontamination des Fleisches kommt es vermutlich erst während des Schlachtprozesses. So konnten Inoue und Kurose (1975), die parallel Fleisch und Darminhalt von Schlachttieren untersucht hatten, in beiden Fällen häufig die gleichen Serotypen nachweisen.

Wie aus Tabelle 16 ersichtlich, wurden auch verschiedene Fleischerzeugnisse wie Schinken, Wurst und rohe Hamburger untersucht. Die Kontaminationsraten liegen zwischen 0 % und 7,2 %. Dabei konnten jedoch obligat humanpathogene Stämme in keinem Fall nachgewiesen werden.

B 4.3.2. Vorkommen in Milch und Milcherzeugnissen

Die Untersuchungen über den Nachweis von *Yersinia enterocolitica* in Milch wurden überwiegend an Rohmilch durchgeführt (Tabelle 17). Dagegen liegen nur wenige

Berichte über *Yersinia enterocolitica* Funde in pasteurisierter Milch und in Milcherzeugnissen vor. Schiemann (1978 a) und Hughes (1979) haben Yersinienstämme in pasteurisierter Milch nachgewiesen. Schiemann (1978 a) führte Untersuchungen an Weich- und Hartkäsesorten durch, die überwiegend aus Rohmilch hergestellt worden waren und untersuchte insgesamt 125 Proben. Der Nachweis gelang bei 7 von insgesamt 76 untersuchten Frischkäseproben. Nach Lagerung dieser yersinienhaltigen Proben bei 1° C wurde nach 4 Wochen nur noch eine positive Probe festgestellt, in der sich nach einer weiteren 4-wöchigen Lagerung schließlich keine *Yersinia enterocolitica* Keime mehr nachweisen ließen.

Mit dem Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* in aus Rohmilch hergestelltem Käse ist nach Schiemann (1978 a) lediglich in frischem, jedoch nicht in länger gereiftem Weich- und Hartkäse zu rechnen.

Die Tabelle 17 zeigt, daß aus Milch und Milcherzeugnissen zum Teil nicht typisierbare Stämme isoliert wurden. Die übrigen Stämme gehörten sowohl solchen Serotypen wie O : 4,33 und O : 6,31 an, deren Isolierung beim Menschen nur vereinzelt beschrieben wurde (Shayegani et al., 1979, Toma et al., 1979, Toma et al., 1981), als auch solchen Serotypen, wie O : 6,30 und O : 5,27, die häufiger bei Menschen vorgefunden wurden (Toma und Lafleur 1974, Schiemann und Toma 1978, Toma et al., 1981). Die Serotypen O : 3 und O : 9 konnten in keinem Fall nachgewiesen werden.

Die Frage der Herkunft von Yersinienstämmen in roher Milch, ist nach Durchsicht der Literatur bisher offenbar nur von Hughes (1979) aufgegriffen worden. Bei der Untersuchung von milchwirtschaftlichen Geräten wie Milch-

kannen und Melkmaschinen konnte der Serotyp O : 13,15 isoliert werden, dessen Nachweis Hughes auch aus Milch gelang. Da derselbe Serotyp aus Proben von Wasser isoliert werden konnte, das zur Reinigung dieser Melkgeräte verwendet worden war, vermutet Hughes, daß hier die eigentliche Kontaminationsquelle zu suchen ist.

Sofern Milch ordnungsgemäß pasteurisiert wird und keine Rekontamination erfolgt, ist die Übertragung von Yersinien auf den Menschen durch Genuß von Milch praktisch auszuschließen, da die Erreger durch die üblichen Pasteurisierungstemperaturen sicher abgetötet werden (Hanna et al., 1977 a). Rohmilch kann für eine Übertragung von *Yersinia enterocolitica* dagegen in Frage kommen.

B 4.3.3. Vorkommen in sonstigen Lebensmitteln

Umfangreiche Untersuchungen, die Auskunft über die Häufigkeit des Vorkommens von *Yersinia enterocolitica* Stämmen in anderen Lebensmitteln geben, lassen sich in der Literatur nur vereinzelt finden. So konnten Peixotto et al. (1979) bei Austern in 6 von 45 Proben (13 %), bei Krabben in 12 von 58 Proben (21 %) und bei Garnelen in 2 von 50 Proben (4 %) Yersinienstämme nachweisen. Für den Menschen pathogene Stämme wurden aus diesen Proben allerdings nicht isoliert. Die biochemischen Eigenschaften solcher Stämme, deren Pathogenität für den Menschen noch ungeklärt sind, glichen denen des Biotyps 1 von Niléhn.

In anderen Lebensmitteln wie Eiskrem, Gemüse, Fisch und Muscheln sind Yersinienstämme nur vereinzelt nachgewiesen worden (Rakovsky et al., 1973, Kapperud und Jonsson 1976, Lee 1977 a, Pennington und Cornholm 1977, Alonso et al., 1979, Asakawa et al., 1979, Koburger und

Wahlquist 1979).

B 4.3.4. Vorkommen in Wasser

Untersuchungen über das Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* in Wasserproben sind, wie die Tabelle 18 zeigt, verhältnismäßig häufig durchgeführt worden. Allerdings wurden auch hier Serotypen, wie sie als typische Krankheitserreger beim Menschen anzutreffen sind, nur sehr selten nachgewiesen. Im wesentlichen handelte es sich um Serotypen, die zwar aus menschlichem Untersuchungsmaterial isoliert wurden, deren Bedeutung für den Menschen aber noch unzureichend geklärt ist (Lassen 1972, Weber et al., 1981). Dennoch berichten verschiedene Autoren (Keet 1974, Highsmith et al., 1977, Eden et al., 1977, Christensen 1979) von Erkrankungen, die auf den Genuß von kontaminiertem Wasser zurückzuführen waren.

Yersinia enterocolitica Stämme scheinen in Wasser gut lebensfähig zu sein. Ihre relative Anspruchslosigkeit zeigen die Versuche von Highsmith et al. (1977), die Wachstum in sterilem destilliertem Wasser bei 4° C, 25° C und 37° C nachwiesen. Bei Versuchen von Neilson et al. (1980) überlebten *Yersinien* in künstlichem Meerwasser bei einer Temperatur von 17° C 3 Wochen. Harvey et al. (1976) gelang der Nachweis von *Yersinia enterocolitica* aus kontaminiertem Flußwasser noch nach einer 6-monatigen Kühlung (4° C).

B 4.3.5. Tenazität und Vermehrungsbedingungen von *Yersinia enterocolitica*

Versuche über die T h e r m o s t a b i l i t ä t von *Yersinia enterocolitica* in Lebensmitteln wurden von Hanna

et al. (1977 a, b) durchgeführt. Bei Milch reichen die üblichen Pasteurisierungstemperaturen zur sicheren Abtötung dieses Keimes aus, da er bereits Temperaturen von 60°C über wenige Minuten nicht überlebt (Hanna et al., 1977 a). Auch für Fleisch gelten ähnliche Bedingungen (Hanna et al., 1977 b). So sind nach Erhitzung auf 62°C (Kerntemperatur) im Fleisch keine lebenden Keime mehr nachweisbar.

Gegenüber Gefrier Temperaturen verhalten sich Yersinien ähnlich wie es für Enterobacteriaceen allgemein beschrieben wird. Bei Gefrierlagerung kontaminierter Lebensmittel ist in der Mehrzahl der Fälle mit einer erheblichen Keimzahlreduktion zu rechnen, wie sich durch verschiedene Versuche bestätigen ließ. So hatten sich die Keimzahlen von kontaminiertem Rinderbraten nach einer Lagerungsdauer von 4 Wochen bei einer Temperatur von -23°C von 10^6 bis $10^7/\text{g}$ auf $10^4/\text{g}$ reduziert. Bei einer Kontamination des Fleisches mit 10^4 Keimen/g waren nach 4 Wochen keine Yersinien mehr nachweisbar (Hanna et al., 1977 b). Asakawa et al. (1979) zeigten, daß nach Lagerung von kontaminiertem Kochschinken bei -10°C innerhalb von 7 Tagen die Keimzahl von 10^3 bis $10^4/\text{g}$ auf unter $50/\text{g}$ abnahm. Leistner et al. (1975) beobachteten nach 90-tägiger Gefrierlagerung (-18°C) von kontaminiertem Geflügel allerdings nur eine geringe Keimzahlreduktion.

Wie verschiedentlich festgestellt, wirken sich K ü h l t e m p e r a t u r e n auf das Wachstum von Yersinien günstig aus.

So wurde über das Wachstum von *Yersinia enterocolitica* und *Yersinia enterocolitica*-ähnlichen Stämmen in kontaminierter Milch bei Kühl Lagerung (3°C) berichtet (Stern

et al., 1980 b). In Sterilmilch war die Keimzahl von $2,5 \times 10^2$ /ml innerhalb einer 3-wöchigen Lagerung sogar auf $4,6 \times 10^7$ /ml angestiegen. Daß Yersinien in der Lage sind, sich bei Kühltemperaturen auch in Wasser zu vermehren und über längere Zeiträume lebensfähig sind, zeigten die Untersuchungen von Harvey et al. (1976), Highsmith et al. (1977) sowie Schillinger und McPeters (1978). Highsmith et al. (1977) wiesen Wachstum von *Yersinia enterocolitica* in sterilem destilliertem Wasser bei 4°C nach. Innerhalb von 40 Stunden stieg die Keimzahl um 1,5 Zehnerpotenzen.

Ferner ist auch bei Kühltemperaturen mit dem Wachstum von Yersinien auf Fleisch zu rechnen (Gill und Newton 1979, Seelye und Yearbury 1979, Myers et al., 1982). Hanna et al. (1977 f) prüften das Wachstumsverhalten von *Yersinia enterocolitica* und *Yersinia enterocolitica*-ähnlichen Stämmen auf rohem und gekochtem Rind- und Schweinefleisch bei 0 , 1 , 5 und 7°C . So konnte nach einer länger als 7 Tage dauernden Lagerung bei 0 , 1 und 5°C durchschnittlich ein Keimanstieg um 1 bis 3 Zehnerpotenzen festgestellt werden. Eine 5-tägige Lagerung bei 7°C führte zu einem Keimanstieg um bis zu 5 Zehnerpotenzen. Leistner et al. (1975) kamen zu vergleichbaren Ergebnissen. Sie hatten autoclavierte Schweinefleischsuspensionen, aseptisch gewonnenes Schweinehackfleisch und Frischhähnchen mit Yersinien beimpft. Danach wurden diese Proben bei unterschiedlichen Temperaturen gelagert. In Schweinefleischsuspensionen war während einer 7-tägigen Lagerung bei 0 bis 1°C ein Keimanstieg um 1,5 Zehnerpotenzen festzustellen. Auch in Hackfleisch und auf Geflügelfleisch war Wachstum von Yersinien möglich. Demgegenüber stellten Asakawa et al. (1979) bei ihren Versuchen fest, daß *Yersinia enterocolitica* sich bei 0°C auf Kochschinken nicht vermehren konnte. Eine Keimvermehrung, die nach

5-tägiger Lagerung 1 bis 2 Zehnerpotenzen betrug, fand erst bei Lagerungstemperaturen von 5°C und 10°C statt.

Yersinien konnten aus v a k u u m v e r p a c k t e m Fleisch isoliert werden (Hanna et al., 1976, Gill und Newton 1979, Seelye und Yearbury 1979, Myers et al., 1982). Da durch diese Verpackungsart die gewöhnlich vorhandene gramnegative Verderbnisflora unterdrückt wird und sich dafür eine grampositive, fakultativ anaerobe Laktobazillenflora entwickelt (Seidemann et al., 1976, Hanna et al., 1977 d), vermuteten Hanna et al. (1976), daß sich *Yersinia enterocolitica* infolge des Fehlens einer kompetitiven Hemmung durch andere gramnegative Bakterien gut vermehren würde. Versuche von Hanna et al. (1977 c) zeigen jedoch, daß die Vakuumverpackung für sich allein die Entwicklung von *Yersinia enterocolitica* nicht zu fördern vermag, denn bei vakuumverpacktem Rindfleisch, das 10^2 bis 10^3 Keime/cm² aufwies, stieg die Keimzahl innerhalb einer dreiwöchigen Lagerung bei 5°C um maximal 1,4 Zehnerpotenzen. Dagegen konnte auf Fleisch, das in sauerstoffdurchlässiger PVC - Verpackung aufbewahrt worden war, eine Steigerung der Keimzahl um 4,5 Zehnerpotenzen festgestellt werden.

Der Einfluß des p H - W e r t e s auf das Wachstum von *Yersinia enterocolitica* wurde in festen und flüssigen Nährmedien geprüft. Hanna et al. (1977 b) stellten fest, daß das Wachstum bei 25°C in Bouillon mit pH-Werten von 7 und 8 besser war als bei 6 und 9. Geringes oder kein Wachstum wurde bei einem pH-Wert von 5 beobachtet. Seelye und Yearbury (1979) konnten bei 4°C noch geringes Wachstum im pH-Bereich von 5,2 bis 5,4 und stärkeres Wachstum im Bereich von 5,6 bis 7,6 feststellen. Nach Angaben von Stern et al. (1980 a) und Heim et al. (1980) ist Wachstum bis zu einem pH-Wert von 4,6 bzw. 4,8 mög-

lich. Dabei scheinen sich humanpathogene Stämme resistenter zu verhalten als sog. Umgebungsstämmen. Es ist daher damit zu rechnen, daß das Wachstum von Yersinienstämmen auch in Lebensmitteln mit niedrigeren pH-Werten (5,4 und weniger) geringer ausfällt als in solchen mit höheren pH-Werten (5,6 und mehr). So beobachteten Gill und Newton (1979) sowie Seelye und Yearbury (1979), daß auch in Fleisch der pH-Wert einen Einfluß auf die Vermehrung von *Yersinia enterocolitica* ausübt. Die Autoren konnten feststellen, daß DFD (dark, firm, dry) Fleisch mit einem pH-Wert über 6,0 bis 6,5 durchschnittlich 100-fach höhere *Yersinia enterocolitica*-Keimzahlen als normales Fleisch mit einem pH-Wert um 5,7 aufwies. Mit einem Absterben ist wohl erst mit pH-Werten unter 4,6 und über 9,6 zu rechnen.

Der Einfluß der Rohwürstreifung, von Starterkulturen und Nitrit / Nitrat auf das Wachstum von Yersinien untersuchten Raevuori et al. (1979). Sie stellten Rohwürste her, denen sie 10^4 bis 10^6 *Yersinia enterocolitica* Keime/g in Kombination mit Starterkulturen, 150 ppm Nitrit bzw. 300 ppm Nitrat zusetzten. Die erhaltenen Produkte wurden sofort sowie 3, 7 und 15 Tage nach der Herstellung mikrobiologisch auf *Yersinia enterocolitica* untersucht. In allen Erzeugnissen, auch in solchen, die keinerlei Zusätze von Starterkulturen, Nitrit oder Nitrat enthielten, wurde eine rapide Abnahme des Gehaltes an *Yersinia enterocolitica* Keimen beobachtet. Der Rückgang war in solchen Fällen am deutlichsten, in denen Starterkulturen mit Nitrit oder Nitrat kombiniert zugegeben worden waren. Nach 15-tägiger Lagerung und Reifung konnten in diesen Produkten keine Yersinien mehr nachgewiesen werden.

Die Prüfung von Yersinien auf ihre Kochsalzresistenz ergab, daß die Stämme in Gegenwart von

5 % Kochsalz wachsen können (Heim et al., 1980, Stern et al., 1980 a). Wachstum war vereinzelt bis zu einer Konzentration von 8 % Kochsalz möglich. Dabei stellten Stern et al. (1980 a) fest, daß sich humanpathogene Stämme toleranter gegenüber Kochsalz verhielten als atypische Stämme.

Den Einfluß von K a l i u m s o r b a t auf kontaminiertes Fleisch beschrieben Myers et al. (1981). Nach Eintauchen von Fleisch in Peptonwasser, das 100 Keime/ml enthielt, wurden die so kontaminierten Proben mit 5 % Kaliumsorbitat besprüht, vakuumverpackt und bei 5° C 21 Tage gelagert. Im Gegensatz zu nicht kaliumsorbitat-behandelten Proben waren nach Beendigung der Lagerung keine Yersinien nachweisbar.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

C 1. MATERIAL UND METHODEN

C 1.1. Probenentnahme

Die Untersuchung von *S c h w e i n e t o n s i l l e n* erfolgte in den Monaten August bis Oktober 1981. Bei 103 am Schlachthof Berlin geschlachteten Schweinen, die willkürlich ausgesucht und bei der fleischhygienischen Untersuchung nicht zu beanstanden waren, wurden die Rachenmandeln (*Tonsillae veli palatini*) entnommen und unter aseptischen Kautelen ein ca. doppelt bohngroßes Stück Tonsillengewebe für die weiterführende Untersuchung präpariert. Im Labor erfolgte mit der Schere eine Vorzerkleinerung und anschließende Homogenisierung mit dem Ultra Turrax unter Zugabe von 0,85 %iger Kochsalzlösung.

In den Monaten April bis August 1981 erfolgte die Untersuchung von 200 *R o h m i l c h e i n z e l p r o b e n*, die aus 14 Berliner Abmelkbetrieben stammten.

In einem Zeitraum von Januar bis Mitte Juni 1982 wurden in wöchentlichen Abständen bis zu je 10 Proben *S c h w e i n e h a c k f l e i s c h* mikrobiologisch untersucht. Die insgesamt 224 Proben waren im Rahmen der amtlichen Lebensmittelüberwachung vom Gewerbeaußendienst in Fleischereien und in Fleischabteilungen von Kaufhäusern gezogen worden.

Von April bis August 1981 wurden auch insgesamt 261 *W a s s e r p r o b e n* bakteriologisch auf *Yersinia enterocolitica* untersucht. Dabei handelte es sich um

110 ungereinigte Abwasserproben aus insgesamt 50 kleineren Kläranlagen sowie um 151 Oberflächenwasser von Freibadestellen der Havel.

Weiterhin standen 12 *Yersinia enterocolitica* Stämme zur Verfügung, die aus Stuhlproben von an Enteritis erkrankten Personen im Landesmedizinaluntersuchungsamt* isoliert worden waren. Von diesen Stämmen gehörten je 6 dem Serotyp O : 3 und O : 9 an. Sie wurden als Vergleichsstämme für die biochemische Identifizierung der bei der vorliegenden Untersuchung isolierten *Yersinia enterocolitica* Stämme und für die Pathogenitätstests herangezogen. Darüber hinaus dienten sie auch zur Prüfung der eingesetzten Nährmedien.

C 1.2. Medien für den Nachweis von *Yersinia enterocolitica*

C 1.2.1. Anreicherungsmedien

- phosphatgepufferte Kochsalzlösung, pH-Wert 7,6
- modifiziertes Rappaport Medium nach Wauters (1973)
- Novobiocin-Polymyxin-Kristallviolett Bouillon nach Park (1980)

C 1.2.2. Festnährböden

- *Yersinia*-Selektivagar (SSD-Agar) nach Wauters (Fa. Merck)
- Natriumdesoxycholat-Citrat-Mannit-Agar (YM-Agar) nach Saari und Jansen (1979)

*Herrn Ltd. Medizinaldirektor Dr. Reinsch sei an dieser Stelle für die Überlassung der Isolate herzlichst gedankt.

- Cellobiose-Arginin-Lysin-Agar (CAL-Agar nach Dudley und Shotts (1979)
- "Y" Medium nach Soltész et al. (1980)
- Lackmus-Laktose-Agar nach Drigalski (Fa. Merck)

C 1.3. Kultureller Keimnachweis

Bei sämtlichen Proben erfolgte der Versiniennachweis über Anreicherungsverfahren. Lediglich bei der Untersuchung der Tonsillen wurde parallel zur Anreicherung das Gewebehomogenisat direkt auf Festnährböden überimpft.

Milchproben wurden 14 Tage bei 4° C in phosphatgepufferter Kochsalzlösung vorangereichert und dann anschließend 10 ml in 90 ml modifiziertes Rappaport Medium pipettiert und für 5 Tage bei 25° C inkubiert.

Insgesamt kamen 3 Anreicherungsmedium zur Anwendung. Die Anreicherung der Proben erfolgte im Verhältnis 1 : 10. In der Tabelle 19 sind die Bebrütungstemperaturen und -dauer sowie die mit den jeweiligen Medien untersuchte Probenart und Probenmenge zusammengefaßt. Im Anschluß an die Anreicherung in flüssigen Medien erfolgte der kulturelle Erregernachweis auf festen Nährböden. Dabei wurden insgesamt 6 verschiedene Nährbodenplatten eingesetzt. Die Tabelle 20 gibt einen Überblick über die bei den jeweiligen Proben eingesetzten Nährmedien. Alle Nährböden wurden, mit Ausnahme des "Y" Mediums, das bei 29° C bebrütet wurde, bei 25° C für 24 bis 48 Stunden inkubiert.

Neben der gezielten Untersuchung der o.g. Proben auf *Yersinia enterocolitica* wurden bei der routinemäßigen Untersuchung weitere bakteriologische Daten erfaßt. So wurde bei den Wasserproben der *E. coli* Gehalt als Titer in Laktose-Pepton Bouillon ermittelt. Bei den Abwasserproben erfolgte darüber hinaus die Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl auf Plate-Count-Agar (Caseinpepton-Glucose-Hefeextrakt-Agar, Fa. Merck) mittels der Drop-plating Methode. Bei den Rohmilchproben wurde der *E. coli* Gehalt als Titer in BRILA Bouillon (Brillantgrün-Galle-Laktose Bouillon, Fa. Merck) und die Gesamtkeimzahl auf Plate-Count-Agar ermittelt. Bei den Schweinehackfleischproben wurde die aerobe Gesamtkeimzahl auf Plate-Count-Agar und die Enterobacteriaceenzahl auf dem VRB-Agar (Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Agar) mit Hilfe des Spiralplattenapparates der Fa. Lameris (Frankfurt/Main) bestimmt.

Die Nährmedien für den *E. coli* Titer wurden bei 37° C und 42° C, für die Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl bei 30° C und für die Enterobacteriaceenzahl bei 37° C für 24 bis 48 Stunden inkubiert.

C 1.4. Identifizierung von *Yersinia enterocolitica*

Anhand der zur Verfügung stehenden Humanstämme und der Literaturangaben wurden die Wachstumsmerkmale von *Yersinia enterocolitica* auf den eingesetzten festen Nährmedien bestimmt und in der Tabelle 21 zusammengestellt.

Bei den folgenden Untersuchungen wurden bis zu 5 verdächtige Kolonien je Nährbodenplatte auf Tryptose-

Soja-Agar (Fa. Oxoid) abgeimpft und für 24 Stunden bei 25° C bebrütet. Anschließend wurde von den Kolonien eine Gramfärbung angefertigt. Handelte es sich um ein kokkoides, gramnegatives Stäbchen wurden der Cytochromoxydase- und der Katalasetest vorgenommen. Bei negativer Cytochromoxydase- und positiver Katalase-Reaktion erfolgte die Beimpfung von Eisen-Zweizucker-Agar nach Kligler und von Harnstoff-Agar nach Christensen. Die Bebrütung erfolgte für 24 Stunden bei 25° C. Bei entsprechendem Reaktionsausfall (Kligler-Agar: Schräglfläche Umschlag nach Rot durch Alkalibildung/Stich Umschlag nach Gelb durch Säurebildung, kein Gas, kein H₂S; Harnstoffspaltung: positiv) erfolgte die biochemische Überprüfung und serologische Typisierung der Isolate.

Die taxonomische Erfassung der Stämme und deren Zuordnung in Biotypen erfolgte mittels der Bunten Reihe. Dabei wurde das Verhalten gegenüber folgenden Substraten geprüft: Fermentation von Glukose (mit Durham-Röhrchen), Laktose, Mannit, Fruktose, Galaktose, Ribose, Raffinose, Melibiose, Arabinose, Stärke, Maltose, Trehalose, Saccharose, Sorbit, Sorbose, Xylose, Salicin, Aeskulin, Cellobiose, Rhamnose, Adonit, Malonat, Glykogen, Inosit, Melezitose, Inulin, Dulcitol.

Ferner wurde das Wachstum auf Simmons-Citrat-Agar bestimmt, es erfolgte die Prüfung der Stämme auf ihr Verhalten im Methylrot-Voges-Proskauer Test, dem Ornithin-Decarboxylase- (ODC-), Lysin-Decarboxylase- (LDC-), Arginin-Dihydrolase- (ADH-), Phenylalanin-Desaminase- (PAD-) und im β -Galactosidase- (ONPG-) Test, die Prüfung der Reduktion von Nitrat zu Nitrit, die Verflüssigung von Gelatine in der Stichkultur sowie der Indol-Nachweis. Für die Beurteilung der Beweglichkeit wurden die Stämme in Bouillon angezüchtet und dann im hängenden Tropfen untersucht.

Die Inkubationstemperatur betrug bei allen Tests 37° C. Das Medium für den Ornithin-Decarboxylase Nachweis, das Voges-Proskauer Medium und die Bouillon für die Beweglichkeitsprüfung wurden auch bei 25° C bebrütet. Die ersten Ablesungen erfolgten nach 48 Stunden und die Endablesung nach 7 Tagen.

Die serologische Differenzierung und Zuordnung zu den beiden Serogruppen O : 3 und O : 9 erfolgte mittels Objektträgeragglutination mit den entsprechenden O - Faktorenseren (Fresenius Art. Nr. 4729431).

C 1.5. Pathogenitätstests

Die bei der vorliegenden Untersuchung isolierten 14 *Yersinia enterocolitica* Stämme sowie die 12 Humanstämme, die in Stuhlproben von an Enteritis erkrankten Personen im Landesmedizinaluntersuchungsamt nachgewiesen worden waren, wurden 7 Pathogenitätstests unterzogen.

Für den Letalität- und Virulenznachweis sowie den Enterotoxinnachweis kamen konventionell gehaltene Mäuse des NMRI-Stammes Hannover aus institutseigener Zucht zum Einsatz.

Die Letalitseigenschaften der *Yersinia enterocolitica* Stämme wurden mit dem Säuglingsmäuse - Intraperitoneal - Injektionstest nach Aulisio et al. (1981) geprüft. Die Teststämme wurden in Bouillon bei 25° C für 48 Stunden angezüchtet, abzentrifugiert und in 0,85 %iger Kochsalzlösung photometrisch (Eppendorf Digitalphotometer 6115 S, Filter 578 nm, Schlitzblende 2,5 x 5) auf einen Keimgehalt von $1,0 \times 10^9$ /ml einge-

stellt. Der tatsächliche Keimgehalt wurde mittels der Drop-plating Methode auf Tryptose-Soja-Agar ermittelt und lag zwischen $8,0 \times 10^8$ und $2,2 \times 10^9$ /ml. Es erfolgte dann eine dezimale Verdünnung in 0,85 %iger Kochsalzlösung. Je vier 2 bis 3 Tagen alten Mäusen wurden 0,1 ml jeder Verdünnungsstufe intraperitoneal injiziert. Starben die Tiere innerhalb von 24 Stunden, lag eine unspezifische Todesursache vor, während der Tod der Tiere zwischen dem 2. und 7. Tag auf *Yersinia enterocolitica* zurückgeführt wurde. Die Bestimmung der LD₅₀ erfolgte nach der Methode von Reed und Muench (1938).

Darüber hinaus wurde die *L e t a l i t ä t* der Stämme auch gegenüber adulten Mäusen getestet. Wie den Säuglingsmäusen wurden den adulten Mäusen Verdünnungen einer Keimsuspension intraperitoneal injiziert. Die injizierte Menge betrug jedoch nicht 0,1 ml sondern 0,2 ml.

Für die *V i r u l e n z p r ü f u n g* kam das *M a u s - d i a r r h o e M o d e l l* von Laird und Cavanaugh (1980) zur Anwendung. Gruppen von 5 Mäusen, die zwischen 20 und 25 g wogen, wurden 20 Stunden ohne Wasser gehalten. Anschließend konnten sie ad libitum von 50 ml einer Keimsuspension trinken, die ca. 10^9 Keime/ml enthielt. Nach 24 Stunden wurde die Keimsuspension gegen frisches Trinkwasser ausgetauscht. Die infizierten Tiere wurden über einen Zeitraum von 21 Tagen täglich auf Anzeichen von Diarrhoe untersucht, indem die Faeces mit Kot nicht infizierter Tiere verglichen wurden. Anzeichen von Diarrhoe wurde als spezifisch für *Yersinia enterocolitica* bewertet.

Der Enterotoxinnachweis erfolgte im Säuglingsmäusetest. Die Stämme wurden in 20 ml Tryptose-Soja-Hefeextrakt (0,6 %)-Bouillon in einem Schüttelwasserbad (180 Schüttelungen/Min.) bei 25° C für 48 Stunden angezüchtet. Die Kulturen wurden anschließend bei 4° C 30 Minuten zentrifugiert (10.000 Umdrehungen/Min.). Der Überstand wurde bei einer Temperatur von 90° C 15 Minuten lang erhitzt. Zu 1 ml des so behandelten Überstandes wurden 2 Tropfen einer 2 %igen Evans-Blau Lösung zugesetzt. Je 4 Mäusen im Alter von 3 bis 5 Tagen wurden 0,1 ml gefärbten Überstandes in den milchgefüllten Magen injiziert. Die Tiere wurden 4 Stunden bei einer Temperatur von 25° C ohne die Möglichkeit einer weiteren Nahrungsaufnahme gehalten und anschließend mit Chloroform getötet. Nach Präparation der Därme wurden diese gemeinsam gewogen und in Relation zu dem Gewicht der restlichen Körper der 4 Mäuse gebracht. Ein Verhältnis Darmgewicht/Körpergewicht von 0,08 und mehr wurde als positiver Enterotoxinnachweis gewertet. Als Negativkontrolle diente die auf gleiche Art aufbereitete Tryptose-Soja-Hefeextrakt (0,6 %)-Bouillon.

Die Überprüfung der Zellinvasivität erfolgte in der HeLa Zellkultur.

Haltung der Zell-Linie

Die Versuche wurden mit HeLa Zellen (Stamm Bristol/S 3) der Firma Seromed durchgeführt. Zur Fortzüchtung der Linie wurden die Zellen in einer Konzentration von 10^5 Zellen/ml im Anzuchtmedium suspendiert und zu 30 ml in 250 ml Gewebekulturflaschen (Fa. Lux) pipettiert. Als Anzuchtmedium kam Eagle's Minimum Essential Medium (Fa. Seromed), gelöst in Earle's Salzlösung unter Zusatz

von 10 % Kälberserum (Fa. Seromed), 100 i.E. Penicillin und 100 µg Streptomycin, zur Anwendung. Die Inkubation der Zellkulturen erfolgte bei 37° C in einem CO₂-Inkubator bis sich im Verlauf von 4 Tagen ein Monolayer ausbildete.

Für Passagen wurden die HeLa Zellen nach Absaugen des Mediums mit 0,05 % Trypsin und 0,02 % Versen enthaltender Ca⁺⁺ - und Mg⁺⁺ -freier phosphatgepufferter Kochsalzlösung nach Dulbecco und Vogt (1954) überschichtet, bei 37° C inkubiert bis sich die Zellen nach 10 Minuten von der Flaschenwand ablösten. Nach Zentrifugation (5 Minuten, 800 Umdrehungen/Min.) wurde das Zellsediment in der erforderlichen Konzentration im Anzuchtmedium resuspendiert.

Herstellung der Deckglaskulturen

Deckgläser in einer Größe von 24 x 32 mm wurden im Ultraschallbad in 5 % Deconex-Standard Lösung behandelt, anschließend gründlich in Leitungswasser gespült und durch 4 Bäder mit destilliertem Wasser geführt. Nach der Trocknung erfolgte die Entkeimung im Heißluftsterilisator. Die sterilen Deckgläser wurden in die Vertiefungen der Multiplate Gewebekulturschalen (Fa. Lux) eingelegt und für 1 Stunde einer UV-Bestrahlung unterzogen. In jede der 8 Vertiefungen einer Kulturschale wurden 2,5 ml Zellsuspension pipettiert, die 10⁵ HeLa Zellen je ml Anzuchtmedium enthielt, und bei 37° C in einer 5 %igen CO₂-Atmosphäre inkubiert, bis die Deckgläser nach 2 bis 3 Tagen mit einem nicht konfluierenden Monolayer ("leopard spots") bewachsen waren.

Herstellung der Keimsuspension

Die Stämme wurden in Tryptose-Soja Bouillon angezüchtet und nach 24 Stunden auf Tryptose-Soja-Agar ausgespatelt.

Die Bebrütung der Bouillonröhrchen und der Nährböden erfolgte bei 25° C. Nach einem Bebrütungszeitraum von 24 Stunden wurden die Bakterien mit phosphatgepufferter Salzlösung nach Dulbecco und Vogt abgespült, dreimal in der Salzlösung gewaschen und anschließend wieder in Salzlösung resuspendiert. Nach photometrischer Einstellung der Keimdichte (Eppendorf Digitalphotometer 6115 S, Filter 578 nm, Schlitzblende 2,5 x 5) auf ca. $5,0 \times 10^8$ Keime/ml erfolgte ein Zusatz von 20 % Kälberserum.

Infektion der Zellkulturen

Die Zellkulturen wurden dreimal in Ca^{++} und Mg^{++} -freier phosphatgepufferter Salzlösung nach Dulbecco und Vogt (PBS) gewaschen. In jede Kammer der Gewebekulturschale wurde 1 ml der Bakteriensuspension pipettiert und anschließend bei 37° C für 90 Minuten in einer 5 %igen CO_2 -Atmosphäre bebrütet. Anschließend wurde das Inokulum abgesaugt und die Zellkulturen erneut dreimal mit PBS gewaschen. Nach Zugabe von 2,5 ml MEM Earl pro Kammer mit einem Zusatz von 10 % Kälberserum, 100 i.E./ml Penicillin und 100 µg/ml Streptomycin wurden die Kulturen weiter bei 37° C für 3 Stunden bebrütet.

Färbung der Deckglaskultur

Im Anschluß an die Inkubation und Entfernung des Gewebekulturmediums wurden die Deckglaskulturen zwecks Entfernung extracellulärer Bakterien dreimal gewaschen, luftgetrocknet, 5 Minuten in Äthanol fixiert und 30 Minuten mit Giemsalösung (0,05 ml GiemsaastammLösung pro ml aqua dest.) gefärbt. Nach Spülung in aqua dest. wurden die Präparate luftgetrocknet und in Eukitt eingebettet.

Bewertung der Zellinvasivität

Die mikroskopische Untersuchung der Deckglaskulturen erfolgte mit 1000-facher Vergrößerung (Ölimmersion) im Zeiss-Mikroskop. Ein Stamm wurde als HeLa Zell positiv beurteilt, wenn mindestens 5 Bakterien im Zytoplasma von 5 % oder mehr HeLa Zellen nachweisbar waren. Je Ansatz wurden 1000 Zellen gezählt und die Invasionsrate nach folgender Formel bestimmt:

$$\text{Invasionsrate in \%} = \frac{\text{Zahl der infizierten Zellen}}{\text{gezählte Zellen}} \times 100$$

Der A u t o a g g l u t i n a t i o n s t e s t wurde in sterilen Gewebekulturröhrchen (16 x 125 mm, Fa. Falcon) durchgeführt, die jeweils 2 ml Kulturmedium (MEM Earl mit 10 % Kälberserum) enthielten. Die zu prüfenden Kolonien wurden 2 Tage bei 25° C auf Tryptose-Soja-Agar angezüchtet und von jedem Stamm je 10 Einzelkolonien parallel in 2 Röhrchen überimpft und bei 25° C bzw. 37° C für 18 Stunden bebrütet. Das Wachstum agglutinationspositiver Stämme zeigte sich in einer unregelmäßig begrenzten Schicht agglutiniierter Bakterien und einem klaren Mediumüberstand. Bei vorsichtigem Aufschütteln waren deutliche Bakterienkonglomerate erkennbar. Augglutinationsnegative Stämme bildeten entweder glatte knopfförmige Sedimente im Zentrum des Röhrchenbodens, die beim Aufschütteln das Medium gleichmäßig trübten, oder sie blieben in Suspension.

Der Nachweis der C a l c i u m a b h ä n g i g k e i t und damit die des V - W A n t i g e n s wurde mittels des von Higuchi und Smith (1961) entwickelten Differenzierungsmediums (MOX-Agar = Magnesium-Oxalat-

Agar) durchgeführt. Dieses Medium wurde hergestellt durch Zusatz von 2,68 g Natriumoxalat und 4,067 g $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ zu einem Liter Tryptose-Soja-Agar (pH-Wert 7,6). Die Teststämme wurden in Tryptose-Soja Bouillon bei 25°C für 24 Stunden angezüchtet. Anschließend erfolgte die Verdünnung in phosphat-gepufferter Kochsalzlösung auf 10^4 Keime/ml. Von der Suspension wurden 10 μl auf MOX-Agar und Tryptose-Soja-Agar im Doppelansatz ausgespatelt und bei 25°C und 37°C für 24 Stunden bebrütet. Kein Wachstum auf dem MOX-Agar bei 37°C und Wachstum auf den Kontrollplatten wurde als Beweis der Calciumabhängigkeit gewertet und daß die untersuchten Stämme den V-W Antigen Komplex tragen.

C 2. ERGEBNISSE

Bei 103 untersuchten *Schweinetonsillen* gelang insgesamt 14* mal (13,6 %) der Nachweis von *Yersinia enterocolitica*. Dabei waren 10 Stämme dem Serotyp O : 3 und 4 Stämme dem Serotyp O : 9 zuzuordnen.

Mittels *Direktkultivierung* war bei keiner Probe *Yersinia enterocolitica* nachweisbar, dagegen gelang der Nachweis sowohl nach Kälteanreicherung in phosphatgepufferter Kochsalzlösung als auch nach Anreicherung im modifizierten Rappaport Medium.

Mit Hilfe der *Kälteanreicherung* wurden 5 Stämme (4,8 %) isoliert. Die Isolate gehörten alle zum Serotyp O : 3. Bei diesen Isolierungsversuchen erwiesen sich nach der 1. Subkultivierung nach einer einwöchigen Bebrütung drei Proben als positiv, während in der 2. Woche in zwei weiteren Proben *Yersinia enterocolitica* nachgewiesen wurden. Bei der letzten Überimpfung auf feste Nährböden nach 3 Wochen erwiesen sich ebenfalls die gleichen 5 Proben als positiv.

Der Einsatz des *modifizierten Rappaport Mediums* erhöhte die Zahl der nachgewiesenen Stämme auf 14 (13,6 %). Dabei konnte 10 mal der Serotyp O : 3 (9,7 %) und 4 mal der Serotyp O : 9 (3,9 %)

* Die Stämme wurden mit den Ziffern 1 bis 14 numeriert, in allen weiteren Untersuchungen wurde diese Kennzeichnung beibehalten. Die fortlaufende Nummer steht nicht mit der Reihenfolge der Isolierung in Zusammenhang.

isoliert werden. Die Stämme vom Serotyp 0 : 3, die über die Kälteanreicherung nachgewiesen wurden, waren ebenfalls nach Anreicherung im modifizierten Rappaport Medium nachweisbar.

Einen Überblick über die Anwachsrate auf den einzelnen Nährböden in Abhängigkeit der eingesetzten Anreicherungsverfahren gibt die Tabelle 22. Dabei ist festzustellen, daß für den Nachweis von *Yersinia enterocolitica* nicht nur die Art des Anreicherungsmediums, sondern auch die Art der eingesetzten Festnährböden von Bedeutung ist. Nach Kälteanreicherung ergab die Kultivierung auf dem YM-Agar nach Saari und Jansen (1979) 4 und nach Anreicherung im modifizierten Rappaport Medium 12 positive Befunde. Mit diesem Nährboden wurde die höchste Anwachsrate erzielt. Mit dem "Y" Medium nach Soltész et al. (1980) konnten 3 bzw. 11 Stämme isoliert werden. Der *Yersinia*-Selektivagar nach Wauters erfaßte 3 bzw. 10 Stämme und zeigte somit ein ähnlich gutes Isolierungsergebnis. Der Drigalski-Agar, der Cellobiose-Arginin-Lysin-Agar nach Dudley und Shotts (1979) und der MacConkey-Agar brachten die wenigsten Isolate. Dabei konnte nach Kälteanreicherung auf dem Drigalski-Agar kein Stamm isoliert werden.

Die zwei *Yersinia enterocolitica* Stämme, die nach Anreicherung im modifizierten Rappaport Medium auf dem Drigalski-Agar wuchsen, waren auch auf den 5 übrigen Nährböden nachweisbar. Die übrigen 12 Stämme wurden in keinem Fall auf allen 5 Nährböden gleichzeitig gefunden.

In 224 Hackfleischproben konnte trotz Anwendung von 3 Anreicherungsmedien (phosphatgepufferte Kochsalzlösung, modifiziertes Rappaport Medium, Novobiocin-Polymyxin-Kristallviolett Bouillon) und nachfolgender

paralleler Beimpfung von 4 Nährbodenplatten (Natrium-desoxycholat-Citrat-Mannit-Agar, "Y" Medium, Yersinia-Selektivagar, MacConkey-Agar) *Yersinia enterocolitica* nicht nachgewiesen werden.

Angaben über die aerobe Gesamtkeimzahl und Enterobacteriaceenzahl sind für diese Proben in der Tabelle 23 zusammengefaßt. Die Mehrzahl der Proben (219 Proben = 97,2 %) wies eine aerobe Keimzahl von 10^5 bis 10^7 /g auf, während nur in 5 Proben (2,2 %) eine Gesamtkeimzahl von 10^8 /g festgestellt werden konnte. Demgegenüber waren Enterobacteriaceen in Keimzahlen von 10^3 bis 10^5 /g nachweisbar.

Ebenfalls negativ verlief die Untersuchung von 200 Rohmilchproben. Hier erfolgte eine Voranreicherung in phosphatgepufferter Kochsalzlösung mit anschließender Hauptanreicherung im modifizierten Rappaport Medium sowie eine Anreicherung in Novobiocin-Polymyxin-Kristallviolett Bouillon. Die Abimpfung wurde auf 3 Nährböden vorgenommen (Natriumdesoxycholat-Citrat-Mannit-Agar, "Y" Medium, Yersinia-Selektivagar).

Wie die Tabelle 24 zeigt, lag die aerobe Gesamtkeimzahl bei der Mehrzahl der Milchproben (186 Proben = 93 %) bei 10^3 bis 10^4 Keimen/ml. Nur 14 Proben (7 %) enthielten 10^5 Keime/ml. *E.coli* konnte bei 198 Proben (99,0 %) in 1 ml nicht nachgewiesen werden. Bei 2 Proben (1,0 %) lag der *E. coli* Titer bei 10^{-2} .

Bei der Untersuchung von 110 Abwasser- und 151 Oberflächenwasserproben gelang nach Anreicherung der Proben im modifizierten Rappaport Medium und in Novobiocin-Polymyxin-Kristallviolett Bouillon sowie nachfolgender Anzüchtung auf dem Natriumdesoxycholat-Citrat-Mannit-Agar, "Y" Medium und Yersinia-Selektivagar ebenfalls kein *Yersinia enterocolitica*.

colitica Nachweis.

Die Gesamtkeimzahlen und die E. coli Titer sind in der Tabelle 24 angegeben. Bei 73 der 110 A b w a s s e r - p r o b e n (66,4 %) lag die aerobe Keimzahl zwischen 10^6 und 10^7 /ml und bei 37 Proben (33,6 %) zwischen 10^4 und 10^5 /ml. Der E. coli Titer betrug bei 62 dieser Proben (56,4 %) 10^{-4} . Bei den übrigen 48 Proben (43,6 %) lag der Titer in einem Bereich von 10^{-1} bis 10^{-3} .

Von den 151 untersuchten O b e r f l ä c h e n w a s s e r - p r o b e n wiesen 72 (47,7 %) einen E. coli Titer über 1 auf. Bei weiteren 56 Proben (37,1 %) lag der Titer in einem Bereich von 10^{-1} und 10^{-2} , während die restlichen 23 Proben (15,2 %) E. coli bis zu der Titerstufe 10^{-3} und 10^{-4} aufwiesen.

Die Ergebnisse der b i o c h e m i s c h e n D i f f e r e n z i e r u n g der 14 aus Schweinetonsillen isolierten Yersinia enterocolitica Stämme sind in der Tabelle 25 zusammengestellt. Da die einzelnen Stämme sich soweit biochemisch einheitlich verhielten, konnte auf eine Darstellung der biochemischen Eigenschaften jedes einzelnen Stammes verzichtet werden. Die zum Vergleich herangezogenen 12 aus Faecesproben des Menschen isolierten Stämme zeigten in ihren biochemischen Reaktionen keine Unterschiede zu denen der aus Schweinetonsillen isolierten Stämme und konnten den gleichen Biotypen zugeordnet werden. Die Stämme des Serotyps 0 : 3 (10 Stämme aus Schweinetonsillen, 6 Stämme aus Faecesproben) gehörten dem Biotyp 4 nach Niléhn an. Die Stämme des Serotyps 0 : 9 (4 Stämme aus Schweinetonsillen, 6 Stämme aus Faecesproben) waren dem Biotyp 2 nach Niléhn zuzuordnen.

In den Tabellen 26 und 27 sind die Ergebnisse der Pathogenitätstests zusammengestellt, die mit den vom Schwein und Menschen isolierten *Yersinia enterocolitica* Stämme durchgeführt wurden.

Die 14 aus Schweinetonsillen isolierten Stämme zeigten folgende Ergebnisse (Tabelle 26): Im Säuglingsmäuse - Intraperitoneal - Injektionstest erwiesen sich 8 Stämme (57 %) als positiv. Die LD_{50} lag dabei zwischen 10^4 und 10^6 Keimen. Mit den übrigen 6 Stämmen konnte auch mit einer Infektionsdosis von 10^7 Keimen kein letaler Effekt erzielt werden. Gegenüber adulten Mäusen verhielten sich dagegen alle 14 Isolate sowohl nach intraperitonealer Injektion als auch nach oraler Applikation im Mausdiarrhoe Modell avirulent. Zellinvasivität konnte in der HeLa Zellkultur bei 9 Stämmen (64 %) nachgewiesen werden. Die Zellinvasionsrate lag hier bei über 75 %. Die Bildung von Enterotoxin war bei 7 Stämmen (50 %) nachweisbar. Autoagglutinationspositiv erwiesen sich 5 Stämme (35 %), die darüber hinaus auch calciumabhängig waren, da diese Stämme nicht auf dem MOX-Agar bei $37^{\circ}C$ wachsen konnten.

Dr. C. Aulisio (Food and Cosmetics Microbiology Branch Division of Microbiology Bureau of Food, Washington) überprüfte und bestätigte die Ergebnisse der Pathogenitätstests mit *Yersinia enterocolitica*, die aus Schweinetonsillen isoliert worden waren. Weiterhin bestimmte er noch bei diesen 14 Stämmen die Invasivität in vivo (Sereny Test) und führte bei 12 der Stämme den Plasmidnachweis durch. Bei keinem der 14 Stämme konnte er Invasivität

im Sereny Test feststellen. Bei 5 der 12 Stämme wies er ein Plasmid nach, dessen Molekulargewicht bei 44 oder 45 Mdal lag. Bei einem Stamm war kein eindeutiges Ergebnis zu ermitteln.

Bei einer Auswertung der Ergebnisse war lediglich eine Korrelation zwischen Autoagglutination, Calciumabhängigkeit und dem Auftreten eines Plasmids festzustellen. Alle plasmidhaltigen Stämme erwiesen sich als autoagglutinationspositiv und als calciumabhängig bei 37° C.

Die 12 aus Stuhlproben vom Menschen isolierten Stämme verhielten sich in den Pathogenitätstests ähnlich wie die aus Schweinetonsillen isolierten Stämme, wenn man davon absieht, daß der Prozentsatz der positiv verlaufenden Pathogenitätstests bei den Humanstämmen etwas höher lag.

Die folgenden Ergebnisse waren feststellbar (Tabelle 27): Letalitätseigenschaften wurden im Säuglingsmäuse-Intraperitoneal-Injektionstest bei 8 Stämmen (66 %) nachgewiesen. Die LD₅₀ lag bei diesen Stämmen zwischen 10⁴ und 10⁶ Keimen. Bei 4 Stämmen konnte auch mit einer Infektionsdosis von 10⁷ Keimen keine Mäuseletalität erzielt werden. Adulte Mäuse zeigten dagegen sowohl nach intraperitonealer Injektion, als auch nach oraler Applikation der Keime im Mausdiarrhoe Modell keine Symptome. Zellinvasivität wurde in der HeLa Zellkultur bei 11 der 12 Stämme (91 %) festgestellt. Die Zellinvasionsrate lag bei über 80 %. Enterotoxin bildeten 10 der 12 Stämme (83 %). Autoagglutationspositiv waren 9 Stämme (75 %), die auch als

c a l c i u m a b h ä n g i g bestimmt wurden, da sie auf dem MOX-Agar bei 37° C kein Wachstum zeigten.

Ein Vergleich der Ergebnisse ließ nur eine Wechselbeziehung zwischen dem Autoagglutinationsverhalten und der Calciumabhängigkeit der Stämme erkennen. So waren alle agglutinationspositiven Stämme auch calciumabhängig bei einer Bebrütungstemperatur von 37° C.

D. DISKUSSION

Das Schwein wird als wichtigstes Reservoir humanpathogener *Yersinia enterocolitica* Stämme angesehen und verschiedentlich wird die Vermutung geäußert, daß eine menschliche *Yersinia enterocolitica* Infektion durch Verzehr vom Schwein stammender Lebensmittel verursacht werden kann. Trotzdem ist bis heute noch kein gesicherter Beweis für eine menschliche Yersiniose erbracht worden, die auf den Genuß von Schweinefleisch oder Schweinefleischprodukten zurückzuführen gewesen wäre (Niléhn 1969, Zen-Yoji et al., 1974, Leistner et al., 1975, Asakawa et al., 1979, Schiemann 1980, Stern 1981, Weber und Knapp 1981, Weber und Lembke 1981 a). Ob Yersinien überhaupt regelmäßig im Schweinefleisch vorkommen, ist bis jetzt unzureichend untersucht. Ein wesentliches Problem für den Nachweis von *Yersinia enterocolitica*, insbesondere aus Lebensmitteln, stellt nämlich die Frage der Anreicherung und der selektiven Züchtung dar. Es ist bekannt, daß Stämme verschiedener Serotypen unterschiedliche Anforderungen an die Nährmedien stellen und demzufolge auch eine Vielzahl von Medien für den kulturellen Erregernachweis empfohlen werden (Tabelle 5 und 6), ohne daß sich bisher ein Medium alleine als ausreichend erwiesen hat. In den vorliegenden Untersuchungen mußten daher verschiedene Flüssig- und Festnährböden parallel eingesetzt werden.

Bei der Untersuchung der Schweinetonstillen gelang bei 14 der 103 untersuchten Proben (13,6 %) der Nachweis von Stämmen des Serotyps O : 3 (10 mal) und des Serotyps O : 9 (4 mal). Dieses Ergebnis entspricht den Angaben in der Literatur, nach denen insbesondere der Serotyp O : 3 und in etwas geringerem Umfang der Serotyp O : 9 beim Schwein

gefunden werden. Vergleicht man allerdings die bisher vorliegenden Ergebnisse, so sind unterschiedliche Angaben über die Zahl positiver Funde festzustellen, die in einem Bereich von 0 % bis 50 % liegen können. Für diese Unterschiede gibt es nach Durchsicht der Literatur verschiedene Erklärungen: So wird durch das Untersuchungsmaterial, je nachdem ob z.B. Tonsillen, Lymphknoten oder Faecesproben untersucht werden, die Nachweisquote beeinflusst. Durchschnittlich höhere Werte (15,3 %) wurden mit der Untersuchung von Tonsillen (Tabelle 12) erzielt. Bei Kotuntersuchungen wurden durchschnittlich in 7,5 % der Proben (Tabelle 11) *Yersinia enterocolitica* nachgewiesen, während bei Mesenteriallymphknoten (Tabelle 10) die Isolierungsrate nur bei 0,5 % liegt. Ferner beeinflusst auch die Art der Tierhaltung, der Hygienestandard der Betriebe und die Jahreszeit, in der die Untersuchungen vorgenommen werden, das Ergebnis. So kann bei unzureichender Hygiene sowie bei Extensivhaltung der Tiere mit einem gehäuften Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* gerechnet werden (Aldova et al., 1980, Christensen 1980 b). Bekannt sind die jahreszeitlichen Unterschiede in der Infektionshäufigkeit, wobei in den Wintermonaten vorgenommene Untersuchungen eine höhere Isolierungsrate ergeben (Zen-Yoji et al., 1974, Toma und Deidrick 1975, Tsubokura et al., 1976, Bockemühl et al., 1979, Weber und Knapp 1981, Weber und Lembke 1981 a, b). Da Untersuchungen sich meist nur über einen kürzeren Zeitraum erstrecken werden sie, je nachdem zu welcher Jahreszeit sie durchgeführt werden, unterschiedliche Befunde ergeben. Auch kann eine in Verdachtsfällen vorgenommene Untersuchung, so z.B. von enteritiserkrankten Tieren (Esseveld und Goudzwaard 1973) oder von Tieren, die einen *Brucella*-Titer aufweisen (Esseveld und Goudzwaard 1973, Bockemühl und Roth 1978, Nattermann et al., 1980) die Zahl der positiven Proben erhöhen.

Zweifelloos kommt auch den Kultivierungsverfahren eine besondere Bedeutung zu. Bereits die wenigen Funde der vorliegenden Arbeit zeigen deutliche Unterschiede in der Isolierungsrate bei den verwendeten Anreicherungsmedien sowie den festen Nährmedien. Zunächst ist festzustellen, daß die Anreicherung im modifizierten Rappaport Medium der Kälteanreicherung in phosphatgepuffelter Kochsalzlösung überlegen ist. So waren neben den 5 auch über die Kälteanreicherung isolierten Stämmen noch zusätzlich 9 weitere Stämme nach Anreicherung im modifizierten Rappaport Medium nachweisbar, zu denen die 4 Stämme des Serotyps O : 9 gehörten. Weiterhin konnte mit dem Einsatz dieses Mediums nicht nur die Zahl der Isolate erhöht werden, sondern es ermöglichte einen Nachweis bereits nach 2-tägiger Bebrütung. Zu vergleichbaren Ergebnissen kommen auch Wauters (1979) und Weber und Lembke (1981 b). Es ist aber hervorzuheben, daß trotzdem mit diesem Medium nicht alle Stämme erfaßt werden können. Wie die eigenen Untersuchungen und die Angaben der Literatur (Wauters 1979, Weber und Lembke 1981 b) zeigen, gelingt mit dem Rappaport Medium bevorzugt der Nachweis der Serotypen O : 3 und O : 9. Stämme anderer Serotypen können sich gegen Carbenicillin und/oder $MgCl_2$ empfindlich erweisen (Wauters 1973, Lee 1977 b, Van Noyen et al., 1980), so daß deren Nachweis nicht gelingt und daher zusätzlich ein nicht selektives Medium wie z.B. phosphatgepufferte Kochsalzlösung verwendet werden sollte. Auch kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, daß es vereinzelt gegen Carbenicillin empfindliche Stämme vom Serotyp O : 3 und O : 9 gibt (Vidon und Delmas 1981). Bei der Kälteanreicherung in phosphatgepuffelter Kochsalzlösung finden zwar keine Hemmstoffe Anwendung, jedoch muß man als Nachteil die mehrwöchige Inkubationsdauer in Kauf nehmen. Daneben wird man mit einer geringen Isolierungsrate rechnen müssen, wie die vorliegende Untersuchung und die Angaben der Literatur (Wauters 1979, Weber und Lembke

1981 b) zeigen, daß das Wachstum der kompetitiven Begleitflora nicht ausreichend unterdrückt wird.

Die Frage des Zeitpunktes an dem eine Abimpfung aus der Kälteanreicherung vorgenommen werden sollte, ist ebenfalls für den Nachweis von Interesse. Verschiedene Untersucher (Tsubokura et al., 1973, Tsubokura et al., 1976, Bockemühl et al., 1979, Hurvell et al., 1979, Pedersen 1979) nahmen nur eine einmalige Abimpfung nach einer dreiwöchigen Inkubationsdauer vor. Toma und Deidrick (1975) berichteten, daß bei ihren Untersuchungen die meisten Stämme in der 3. Woche gefunden wurden. Sie hatten die Abimpfung nach 1, 2, 3 und 4 Wochen sowie nach 2 und 3 Monaten vorgenommen. Demgegenüber beobachteten Weber und Lembke (1981 b), daß gelegentlich in positiven Proben nach der 3. Woche *Yersinia enterocolitica* Stämme nicht mehr nachweisbar waren, die nach der 1. oder 2. Woche isoliert werden konnten. Es wurden daher bei der vorliegenden Untersuchung dreimal in Abständen von einer Woche Ausstriche vorgenommen, ohne daß allerdings die von Weber und Lembke (1981 b) geschilderten Beobachtungen gemacht wurden. Es waren vielmehr in der 3. Woche auch die Proben positiv, in denen nach der 2. Subkultivierung *Yersinia enterocolitica* Stämme nachgewiesen worden waren. Aufgrund der geringen Zahl von *Yersinia*-Funden in der eigenen Untersuchung ist hierzu kein abschließendes Urteil möglich.

Als Festnährböden zur Isolierung von *Yersinia enterocolitica* werden in der Literatur (Tabelle 6) eine Reihe von Medien empfohlen. Allerdings ist es problematisch eine Aussage über die Wertigkeit der einzelnen Medien abzugeben, da Vergleichsuntersuchungen nur in sehr beschränktem Umfang durchgeführt worden sind. Außerdem lassen sich die Einflüsse von Anreicherungsmedien und Festnährböden auf die Isolierungsraten nicht voneinander trennen. Ver-

gleichsuntersuchungen an natürlich kontaminiertem Probenmaterial lassen häufig wegen der verhältnismäßig geringen Zahl isolierter Stämme nur schwer eine überzeugende Bewertung zu. Bei der vorliegenden Untersuchung war festzustellen, daß der Natriumdesoxycholat-Citrat-Mannit-Agar, das "Y" Medium und der *Yersinia* Selektivagar, sowohl nach Kälteanreicherung als auch nach der Anreicherung im modifizierten Rappaport Medium sich als nahezu gleichwertig erwiesen, während die Isolierungsrate auf dem MacConkey-Agar, dem Cellobiose-Arginin-Lysin-Agar und dem Drigalski-Agar nach Beimpfung aus dem Rappaport Medium höher war als nach der Kälteanreicherung. Während der Natriumdesoxycholat-Citrat-Mannit-Agar, der *Yersinia* Selektivagar und der MacConkey-Agar in Verbindung mit den o.g. Anreicherungsmedien sich als geeignete Festnährmedien erwiesen haben (Wauters 1979, Weber und Knapp 1981, Weber und Lembke 1981 a, b, c), liegen umfangreiche Vergleichsuntersuchungen mit dem Drigalski-Agar, dem Cellobiose-Arginin-Lysin-Agar oder dem "Y" Medium derzeit nicht vor, so daß eine abschließende Bewertung dieser Nährböden nicht erfolgen kann.

Eine Erklärung für die differierenden Isolierungsraten von *Yersinia enterocolitica* auf den Festnährböden ist die unterschiedliche Zusammensetzung der Nährböden. Vergleicht man die verwendeten Nährbodenbestandteile (Tabelle 28) insbesondere Art und Konzentration der eingesetzten Hemmstoffe, so ist zu erkennen, daß sich die Nährböden mit Zusätzen wie Citraten, Gallensalzen und Desoxycholat als besonders geeignet für die Isolierung erweisen. Offensichtlich wird die konkurrierende Begleitflora besser gehemmt, während auf Nährboden mit geringer Hemmstoffkonzentration diese Begleitflora evtl. vorhandene *Yersinia*-Stämme überdeckt.

Auf die von Aulisio et al. (1980) vorgeschlagene zusätzliche Alkalibehandlung des Anreicherungsmediums vor Beimpfung des MacConkey-Agars wurde verzichtet, da eigene vororientierende Versuche die Beobachtungen von Stern und Oblinger (1980) bestätigten, daß sich nicht alle Stämme als alkaliresistent erweisen, da die Keime nach Alkalibehandlung nicht mehr nachweisbar waren.

Da die aus Schweinetonstillen isolierten Stämme anhand der Sero- und Biotypisierung als humanpathogen einzustufen waren, wurde versucht diese Stämme anhand einiger Pathogenitätstests zu charakterisieren. Als Vergleichsstämme standen 12 Humanisolate zur Verfügung, die aus Faecesproben von an Enteritis erkrankten Personen isoliert worden waren. Die 14 Schweineisolate wurden zusätzlich von Dr. C.C. Aulisio im Sereny Test geprüft und auf das Vorkommen eines Plasmids untersucht. Ein Vergleich der eigenen Untersuchungen mit den in der Literatur beschriebenen Resultaten ist nur bedingt möglich, da häufig wenige Testverfahren parallel eingesetzt wurden, oder, wie bei der eigenen Untersuchung, nur eine geringe Anzahl von Stämmen zur Verfügung standen. Vergleicht man die eigenen Ergebnisse, die bei der Prüfung der vom Schwein (Tabelle 26) und Mensch (Tabelle 27) isolierten Stämme erzielt wurden, so ist feststellbar, daß die Humanisolate häufiger in den Pathogenitätstests positiv reagierten. So verhielten sich im Säuglingsmäuse-Intraperitoneal-Injektionstest 66 % der Humanisolate und 57 % der Schweineisolate positiv. Invasivität in der HeLa Zellkultur zeigten 91 % bzw. 64 %. Enterotoxinbildung war bei 83 % bzw. 50 % nachweisbar und autoagglutinationspositiv verhielten sich 75 % bzw. 35 % der Stämme. Dieses kann aber in Anbetracht der geringen Untersuchungszahlen zufällig sein und erlaubt sicherlich nicht die Schlußfolgerung, daß vom Menschen isolierte Stämme sich grundsätzlich in den Pathogenitäts-

tests anders verhalten als Stämme, die ihren Ursprung beim Schwein haben. Auffallend ist, daß regelmäßige Beziehungen zwischen der Calciumabhängigkeit und der Autoagglutinationsfähigkeit anzutreffen waren. Alle agglutinationspositiven Stämme zeigten auch eine Calciumabhängigkeit bei 37° C. Darüber hinaus erwiesen sich die Stämme, die aus Tonsillen isoliert worden waren auch als Plasmidträger, so daß das Vorkommen der Autoagglutination, der Calciumabhängigkeit und eines Plasmids in Zusammenhang stehen kann, wie auch in der Literatur beschrieben wird (Gemski et al., 1980, Schiemann und Devenish 1980, Schiemann et al., 1981, Smith et al., 1981, Stern und Damaré 1982). Der Aussagewert weiterer Testverfahren wie dem adulten Mäusetest (oral, intraperitoneal), dem Sereny- und Zellkulturtest sowie dem Enterotoxinnachweis für die Charakterisierung pathogener Stämme ist derzeit schwierig zu beurteilen, da oft recht unterschiedliche Ergebnisse erzielt werden, so daß weitere Untersuchungen an einer größeren Zahl von Stämmen notwendig erscheinen. Es scheint daher auch fraglich, inwiefern eine von Mors und Pai (1980) vorgeschlagene Gruppierung von *Yersinia enterocolitica* anhand von Pathogenitätstests (Sereny Test, HeLa Zelltest, Enterotoxinnachweis) sinnvoll erscheint. Inwieweit der von Aulisio et al. (1981) beschriebene Säuglingsmäuse-Intraperitoneal-Injektionstest ein empfindlicheres und aussagekräftigeres Testsystem darstellt, muß zukünftig geklärt werden, da bislang nur von Aulisio et al. dieser Test eingesetzt wurde. In ihren ersten Untersuchungen verhielten sich 14 von 22 Humanisolaten positiv. Die bisher vorliegenden Ergebnisse zeigen aber, daß grundsätzlich auch bei den humanpathogenen Bio- und Serotypen mit unterschiedlichem Verhalten in Pathogenitätstests zu rechnen ist, und es ist unsicher inwiefern die in Pathogenitätstests erzielten Ergebnisse die Schlußfolgerung ermöglichen, einen Stamm als pathogen für den Menschen einzustufen.

Da *Yersinia enterocolitica* Temperaturen, die zur Zubereitung von Speisen angewandt werden, nicht überlebt, ist eine Übertragung auf den Menschen wohl in erster Linie nur durch Verzehr von rohem Schweinefleisch möglich, wobei hier Hackfleisch in Betracht kommt. Im Gegensatz zu den positiven Ergebnissen bei Schweinetonsillen, verliefen die an 224 Schweinehackfleischproben durchgeführten Untersuchungen allerdings erfolglos. Wie im Literaturteil aufgezeigt, haben sich zwar verschiedene Autoren mit der Untersuchung von rohem Schweinefleisch und -erzeugnissen beschäftigt, allerdings waren Stämme, die den humanpathogenen Serotypen angehörten, nur in sehr wenigen Fällen zu ermitteln (Tabelle 15 und 16), sieht man von Schweinezeugen ab, die nicht zum Rohverzehr bestimmt sind. Hackfleisch wurde von Christensen (1980 a) ebenfalls ohne Erfolg untersucht. Wenn sicherlich die Zahl der untersuchten Proben noch zu gering ist, um ein abschließendes Urteil über Schweinehackfleisch als Infektionsquelle fällen zu können, läßt das Ergebnis die Schlußfolgerung zu, daß die Gefährdung des Menschen durch Verzehr rohen Hackfleisches als relativ gering angesehen werden kann. Es ist denkbar, daß hierbei der relativ hohe Gesamtkeimgehalt des Produktes, die Isolierungsrate negativ beeinflusst. Berücksichtigt man weiterhin, daß in hemmstoffhaltigen Medien sich nicht alle *Yersinia*-Stämme vermehren können, so wird man zunächst nicht ausschließen können, daß geringe *Yersinia enterocolitica* Zahlen mit diesen Nachweisverfahren nicht erfaßt werden.

Grundsätzlich ist aber der Nachweis von *Yersinia enterocolitica* Stämmen, insbesondere der Serotypen O : 3 und O : 9, die in der vorliegenden Arbeit von besonderem Interesse waren, mit den o.g. Medien möglich, wie die eigenen Untersuchungen an Tonsillen gezeigt haben und wie auch der Literatur zu entnehmen ist. In eigenen

orientierenden Untersuchungen wurden Hackfleischproben, die aerobe Gesamtkeimzahlen von über 10^6 /g aufwiesen, mit 10 *Yersinia enterocolitica* Keimen/g beimpft. In diesen Versuchen gelang der Nachweis dieser Stämme mit Hilfe der o.g. Medien. Über ähnliche Versuche berichtete Park (1980). Über die Anreicherung in der auch in der vorliegenden Untersuchung benutzten NPC Bouillon gelang ihm in verschiedenen Lebensmitteln, denen 4 bis 8 *Yersinien*/g zugesetzt worden waren und die eine kompetetive Begleitflora von bis zu 10^6 Keimen/g aufwiesen, in bis zu 80 % der Fälle die Wiederfindung von *Yersinia enterocolitica*.

Die bei dieser Arbeit untersuchten Hackfleischproben wiesen überwiegend aerobe Gesamtkeimzahlen von 10^6 /g und weniger auf, so daß der *Yersiniennachweis* mit den eingesetzten Medien durchaus möglich gewesen wäre. Daher dürften insgesamt gesehen die deutlichen Unterschiede der Isolierungsraten zwischen Fleisch/Hackfleisch einerseits sowie Kot und Tonsillen von Schweinen andererseits nur in geringerem Umfang durch Schwächen der Nachweismethoden zu erklären sein.

Ergänzend zu den o.g. Untersuchungen wurden noch Rohmilch- und Wasserproben untersucht, die ebenfalls als mögliche Infektionsquellen bzw. Keimreservoirs diskutiert werden.

Bei den 200 Rohmilchproben handelte es sich um Einzelgemelksproben aus 14 Berliner Abmelkbetrieben, die Rohmilch z.T. im Rahmen der Milch-ab-Hof-Hygiene-Verordnung abgeben. In keiner Probe gelang der Nachweis von *Yersinia enterocolitica* oder von *Yersinienstämmen*, die heute den neuen Species *Yersinia intermedia*, *Yersinia kristensenii* und *Yersinia frederiksenii* zuzuordnen sind. Wie die Literatur zeigt, ist auch in Kuhmilch nicht mit dem Vorkommen der für den

Menschen wichtigsten Serotypen O : 3 und O : 9 zu rechnen. Stämme anderer Serotypen und nicht typisierbare Stämme werden mit sehr unterschiedlicher Häufigkeit (Tabelle 17) nachgewiesen. Allerdings werden in der Literatur Untersuchungen von Sammelmilchproben und nicht von Einzelgemelksproben beschrieben, so daß im einzelnen eine Kontamination durch Melkgeräte, Milchkannen oder Waschwasser durchaus denkbar ist. So weist auch Hughes (1979) daraufhin, daß ein von ihm aus Milch isolierter Stamm im Waschwasser nachgewiesen werden konnte und somit nicht aus dem Euter stammte. Insgesamt gesehen, dürfte die Möglichkeit einer Übertragung von *Yersinia enterocolitica* über Rohmilch auf den Menschen als gering einzuschätzen sein.

Die zum Abschluß der Arbeit durchgeführten Untersuchungen von 151 Oberflächenwasser-, die an Freibadestellen der Havel entnommen worden waren, und von 110 Abwasserproben, die aus 50 Kleinkläranlagen stammten, verliefen ebenfalls negativ. Hier sind es zum einen die geringen *Yersinia* Keimzahlen im Wasser und zum anderen die bei den Abwasserproben angetroffene hohe Begleitflora, die die Isolierung erschweren. Insbesondere Abwasserproben können durchaus durch menschliche Ausscheider kontaminiert sein (Primavesi 1980) und wurden daher auch von Steuer (1982) untersucht, der in 540 Proben ebenfalls keine *Yersinien* nachweisen konnte.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß *Yersinia enterocolitica* zwar häufig bei Mensch und Schwein vorgefunden wird, es aber problematisch ist, zwischen diesen beiden Befunden eine enge Beziehung zu sehen. Die eigenen und die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse konnten keinen Beweis dafür erbringen, daß eine Verbindung Schwein/Mensch über

das Lebensmittel Fleisch besteht und daß der Verzehr von rohem Schweinefleisch tatsächlich eine bedeutsame Infektionsquelle für den Menschen darstellt. Auch Rohmilch und Wasser dürften als Keimreservoir für *Yersinia enterocolitica* nur eine untergeordnete Rolle spielen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Bei der vorliegenden Arbeit wurden 788 Proben (103 Tonsillen von gesunden Schlachtschweinen, 224 Hackfleisch-, 200 Rohmilcheinzel-, 151 Oberflächenwasser- und 110 ungereinigte Abwasserproben) auf das Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* geprüft. Die Proben wurden in bis zu 3 Medien angereichert: phosphatgepufferte Kochsalzlösung, modifiziertes Rappaport Medium (Wauters 1973), Novobiocin-Polymyxin-Kristallviolett Bouillon (Park 1980) und anschließend auf bis zu 6 Selektivnährböden: Natriumdesoxycholat-Citrat-Mannit-Agar (Saari und Jansen 1979), *Yersinia* Selektivagar (Wauters 1973), "Y" Medium (Soltész et al., 1980), Cellobiose-Arginin-Lysin-Agar (Dudley und Shotts 1979), MacConkey-Agar und Drigalski-Agar abgeimpft.

Es gelang nur der Nachweis von 14 Stämmen in den Schweinetonsillen, nicht jedoch in den Hackfleischproben. Somit konnten in der vorliegenden Untersuchung keine Anzeichen dafür gefunden werden, daß Hackfleisch ein Reservoir für humanpathogene *Yersinia enterocolitica* Stämme darstellt und der Verzehr von rohem Schweinefleisch ein großes Risiko für eine unmittelbare Übertragung der Erreger auf den Mensch beinhaltet. Ebenfalls negativ verliefen die Untersuchungen an Rohmilch und Wasserproben.

Von den aus Schweinetonsillen isolierten 14 Stämmen waren 10 Stämme dem Serotyp O : 3 Biotyp 4 (Nilëhn) und 4 dem Serotyp O : 9 Biotyp 2 (Nilëhn) zuzuordnen. Die häufigsten Isolierungen (12 von 14 Stämmen) erfolgten über die Anreicherung im modifizierten Rappaport Medium mit Beimpfung des Natriumdesoxycholat-Citrat-Mannit-Agars.

Diese 14 Stämme und 12 weitere Stämme, die aus Faecesproben von Enteritis-Patienten isoliert worden waren, wurden vergleichend in 7 verschiedenen Pathogenitätstests geprüft: LD₅₀ Bestimmung durch i.p. Injektion in Säuglings- und adulte Mäuse, oraler Fütterungstest, Säuglingsmaustest für das hitzestabile Enterotoxin, HeLa Zelltest, Wachstumshemmung auf dem Magnesium-Oxalat-Agar bei 37° C, Autoagglutinationstest im Gewebezellkulturmedium. Die Stämme reagierten auf die einzelnen Tests unterschiedlich, wobei sich die vom Schwein und Mensch stammenden Isolate ähnlich verhielten. Es war lediglich festzustellen, daß Stämme, die eine positive Autoagglutinationsreaktion zeigten auch durch eine Wachstumshemmung auf dem Magnesium-Oxalat-Agar gekennzeichnet waren.

F. SUMMARY

In the present study, altogether 788 samples comprising 103 tonsils taken from healthy slaughter pigs, 224 samples of minced pork, 200 raw milk, 151 surface water and 110 sewage samples were examined for the presence of *Yersinia enterocolitica*. Phosphate buffered saline, modified Rappaport medium (Wauters 1973) and novobiocin-polymyxin-crystal violet broth (Park 1980) were employed as enrichment media. Subsequently as selective media sodium deoxycholate-citrate-mannitol-agar (Saari und Jansen 1979), *Yersinia*-selective-agar (Wauters 1973), "Y" medium (Soltész et al., 1980), cellobiose-arginine-lysine-agar (Dudley and Shotts 1979), MacConkey-agar and litmus-lactose-agar of Drigalski were used.

Yersinia enterocolitica was isolated from 14 pig tonsils whilst minced pork proved to be free from *Yersinia enterocolitica*. These findings indicate that minced pork is not to be considered as a significant source of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains and that the consumption of raw pork does not involve a great risk to humans of contracting yersiniosis. The attempts at isolation of *Yersinia enterocolitica* from raw milk and water samples also were unsuccessful.

From the 14 strains isolated from pig tonsils, 10 strains belonged to serotype O : 3 biotype 4 (Niléhn) and 4 to serotype O : 9 biotype 2 (Niléhn). Most recoveries (12 out of 14 strains) were gained by enrichment in modified Rappaport medium with subsequent plating on to sodium deoxycholate-citrate-mannitol-agar.

These 14, and another 12 strains which had been isolated from the faeces of patients suffering from gastroenteritis were analysed and compared by using 7 different test procedures: LD₅₀ determination by intraperitoneal injection into suckling and adult mice, oral feeding test, infant mouse assay, HeLa cell invasion test, magnesium-oxalate inhibition test and the autoagglutination test. The strains examined showed different reactions in the above tests but there was no significant difference between the results produced with the human strains and the strains isolated from pig tonsils. It was only noticeable that strains which showed a positive autoagglutination test were characterized by growth inhibition on magnesium-oxalate-agar at 37° C.

G. Tabellen

Tabelle 1:

Unterteilung von *Yersinia enterocolitica* in Biotypen.

Test	Nilehn (1969)					Wauters (1970)					Knapp und Thal (1973)			
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4
Lezithinase						+	-	-	-	-				
Salicin	+	-	-	-	-						-	-	+	v
Aesculin	+	-	-	-	-						-	-	+	v
Indol	+	+	-	-	-	+	(+)	-	-	-	-	+	+	v
D-Xylose	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	v	+	+	v
Nitratreduktion	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-				
Trehalose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-				
D-Sorbit	+	+	+	+	-									
Ornithin-Decarboxylase	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-				
Voges-Proskauer Reaktion 25°C	+	+	+	+	-									
β-Galactosidase 25°C	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-				
Saccharose	+	+	+	+	-									
Sorbose	+	+	+	+	-									
Laktose (O/F)	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-				

+ = positiv nach 48 h

- = negativ

v = variabel

Tabelle 2:

Unterteilung von "Yersinia enterocolitica" in 4 Species unter Berücksichtigung der DNA Gruppe, der Zuordnung zu Serotypen und deren biochemischen Charakteristika

(Brenner et al., 1976; Bercovier et al., 1980; Brenner et al., 1980; Ursing et al., 1980)

Species	DNA Gruppe	repräsentative Serotypen	biochemische Charakteristika
Yersinia enterocolitica	I	0 : 3; 0 : 5, 27 0 : 8; 0 : 9	typisch
Yersinia frederiksenii	II	0 : 1, 0 : 2; 0 : 10 0 : 16	Rhamnose positiv, Raffinose, Melibiose, α -Methylglucosid negativ
Yersinia intermedia	III	0 : 4; 0 : 17	Rhamnose, Raffinose, Melibiose, α -Methylglucosid positiv
Yersinia kristensenii	IV	0 : 11; 0 : 12; 0 : 28	typisch, Ausnahme: Saccharose negativ

Tabelle 3:

Biochemische Differenzierung von *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia frederiksenii*, *Yersinia intermedia* und *Yersinia kristensenii* (Bercovier et al., 1980)

Test	Y.-enterocolitica		Y. frederiksenii	Y. intermedia	Y. kristensenii
	1 - 4	5			
Nitratreduktion	+	-	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	-
D-Cellobiose	+	+	+	+	+
Saccharose	+	v	+	+	-
D-Trehalose	+	-	+	+	+
L-Rhamnose	-	-	+	+	-
D-Melibiose	-	-	-	+	-
α -Methylglucosid	-	-	-	+	-
Ornithin-Decarboxylase	+	v	+	+	+
Indol	v	-	+	+	v
L-Sorbose	+	v	+	+	+
D-Sorbit	+	-	+	+	+
D-Raffinose	-	-	-	+	-
Simmons Citrat	-	-	v	+	-
Maltose	+	+	+	+	+

+ = $\geq$ 90 % positiv innerhalb von 72 h

- = $\leq$ 10 % positiv nach 72 h

v = 10,1 - 89,9 % positiv nach 72 h

Tabelle 4:

Unterteilung von *Yersinia enterocolitica* in 7 Subgruppen unter Berücksichtigung biochemischer und serologischer Eigenschaften (Winblad, 1979)

Subgruppe	Indol	Aesculin	Salicin	VPR 25°C	Rham- nose	Saccha- rose
I (D-Xylose neg.)	-	-	-	+	-	+
II (D-Xylose neg., Trehalose neg.)	-	-	-	-	-	+
III A	-	-	-	+	-	+
III B	-	-	-	+	-	-
III C (D-Xylose pos.)	(+)-	-	-	+	-	+
IV (Indol pos.)	+	-	-	+	-	+
V (Indol, Aesculin, Salicin pos.)	+	+	+	+	-	+
VI (Rhamnose pos.)	+	+	+	+	+	+
VII (Melibiose pos.)	+	+	+	+	+	+

e	Trehalose	Melibiose	Lezithinase	Biotyp (Niléhn)	O-Serotyp	Vorkommen
	+	-	-	4	3	Katzen, Mensch, Schwein, Hund
	-	-	-	5	2	Hase, Ziege
	+	-	-	3	1,3, 5B,(4A)	Chinchilla, Mensch (USA), Tiere
	+	-	-	3	11,12	Mensch, Schwein u.a. Tiere
	+	-	-	3/2	9	Mensch, Schwein
	+	-	+	2	8 (4A, 13,18,20)	Mensch (USA)
	+	-	+	1	2B,4A,5A, 6,7,10,13,14,15, 16,18,19	Mensch, Schwein, u.a. Tiere, Wasser, Lebensmittel
	+	-	+	1	4B,6,14,17,24, 25,26	Wasser, Milch
	+	(+)	+	1	17,23,24,26	Mensch, Wasser

Tabelle 5:

Verschiedene Anreicherungsmedien, deren Bebrütungstemperatur und -dauer zum Nachweis von *Yersinia enterocolitica*

Medien	Temperatur	Zeit	Autor
<u>a) ohne Voranreicherung</u>			
phosphatgepufferte Kochsalzlösung	4°C	21 Tage u.länger	Feeley et al., 1976
Christenson's Kälteanreicherung	4°C	14 Tage	Schiemann, 1978 a,b
Butterfields Phosphat Puffer	4°C	14 Tage	Schiemann und Toma, 1978
phosphatgepufferte Kochsalzlösung mit 1 % Sorbit und 0,15 % Gallsensalzen	4°C	21 Tage	Mehlman et al., 1978
modifiziertes Selenit Medium	22°C	2-3 Tage	Lee et al., 1980
Selenit Medium mit Novobiocin	37°C	1 Tag	Inoue und Kurose, 1975
modifiziertes Rappaport Medium	22-29°C	2-4 Tage	Wauters, 1973
Novobiocin-Polymyxin-Kristallviolett Bouillon	18°C	4 Tage	Park, 1980
<u>b) mit Voranreicherung</u>			
Butterfields Phosphat Puffer danach Weiterzüchtung in modifiziertem Rappaport Medium	4°C 23°C	14 Tage 5 Tage	Schiemann und Toma, 1978
Christenson's Kälteanreicherung danach Weiterzüchtung in modifiziertem Rappaport Medium	4°C 22°C	14 Tage 2 Tage	Schiemann, 1978 a,b
Hefeextrakt Bengalrosa Bouillon danach Weiterzüchtung in Gallensalz Oxalat Sorbose Bouillon	4°C 22°C	9 Tage 5 Tage	Schiemann, 1982

Tabelle 6:

Verschiedene Selektivmedien, deren Bebrütungstemperatur und -dauer zum Nachweis von *Yersinia enterocolitica*

Medien	Temperatur	Zeit	Autor
Yersinia-Selektivagar	25 - 29°C	48 h	Wauters, 1973
Natriumdesoxycholat-Citrat-Mannit-Agar	25°C	48 h	Saari und Jansen, 1979
Cellobiose-Arginin-Lysin-Agar	25°C	40 h	Dudley und Shotts, 1979
Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-Agar	32°C 22°C	24 h 48 h	Schiemann, 1979
MacConkey-Agar mit Tween 80	25°C	48 h	Lee, 1977 b
Desoxyribonuclease-Agar mit Sorbit und Tween 80	25°C	48 h	Lee, 1977 b
Wismut-Sulfit-Agar	25°C	3 - 5 Tage	Hanna et al., 1977 e
"Y" Medium	29°C	48 h	Soltész et al., 1980

Tabelle 7:

Massenerkrankungen durch *Yersinia enterocolitica*

Autor	vermutliche Infektionsquelle	Zahl der erkrankten Personen	Zahl des gefährdeten Personenkreises
Asakawa et al. 1973	Wasser oder andere Lebensmittel (1972)	183	390
"	nicht bekannt (1972)	544	1042
Zen-Yoji et al. 1973	Wasser, Lebensmittel (1972)	198	1086
Eden et al. 1977	Trinkwasser (1975)	750	1550
Food-Borne and Water-Borne Disease in Canada Annual Summary 1975	Rohmilch (1975)	138	831
Black et al. 1978	Schokoladenmilch (1976)	38	220
Zen-Yoji et al. 1981	nicht bekannt (1974)	296	814
"	nicht bekannt (1975)	198	486
"	nicht bekannt (1979)	200	700
"	nicht bekannt (1979)	184	954

N = Nausea

A = Abdominalbeschwerden

D = Diarrhoe

E = Erbrechen

F = Fieber

Symptome	Yersinia enterocolitica Nachweis in Lebensmittelproben	Nachweis in Stuhlproben
A, F, N, E	nein	positiv
A, F, D, E	nein	positiv
F, D, E	nein	positiv
N, D, A, F	positiv	negativ
A, E, D, F	positiv unterschiedliche Serotypen 0 : 6,30	positiv 0 : 5,27
F, D, A	positiv 0 : 8	positiv 0 : 8
F, D, A, E	nein	positiv
A, F	nein	positiv
A, F	nein	positiv
A, D, F	nein	positiv

Tabelle 8:Disposition für enterale Yersiniose nach Alter (Knapp 1980)

Klinisches Bild	Alter in Jahren
Enteritis	0 - 10
Enterocolitis	> 30
mesenteriale Lymphadenitis	10 - 30
Ileitis terminalis	
Arthritis	10 - 40
Erythema nodosum	> 40

Tabelle 9:

Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* in Kotproben von Rindern

- Literaturübersicht -

Land	Anzahl der Proben	positive Proben		Serotypen			Autor
		Anzahl	Prozent	0:3	0:9	sonstige NT	
Japan	200	0	0	-	-	-	Zen-Yoji et al., 1974
	115	9	7,8	-	-	9 (0:4;5;7;10;12 14;22;27;31)	Inoue und Kurose, 1975
Finnland	669	0	0	-	-	-	Ahvonnen et al., 1973
Ungarn	330	2	0,6	1	-	1 (0:5)	Szita et al., 1980
	386	2	5,2	-	-	2 (0:6;7)	Esseveld und Goudzwaard, 1973
Frankreich	32	2	6,2	-	-	1 (0:12)	Alonso et al., 1979
Deutschland	53	6	11,3	keine Angaben			Leistner et al., 1975
	301	0	0	-	-	-	Weber und Lembke, 1981a
Gesamt *	2033	15	0,7	1	0	13	1

* Berücksichtigt wurden nur Literaturstellen, sofern sie Angaben über Anzahl der Proben, Anzahl der positiven Proben und Ergebnisse der serologischen Typisierung der Stämme enthielten

NT = Nicht typisierbar

Tabelle 10:

Vorkommen von Yersinia enterocolitica in Mesenteriallymphknoten von Schweinen

- Literaturübersicht -

Land	Anzahl der Proben	positive Proben		Serotypen			NT	Autor
		Anzahl	Prozent	0 : 3	0 : 9	sonstige		
Japan	917	5	0,5	4	-	1 (0 : 5,27)	-	Zen-Yoji et al., 1974
Niederlande	163	0	0	-	-	-	-	Narucka und Westendoorp, 1977
Deutschland	45	0	0	-	-	-	-	Bockemühl und Roth, 1978
	165	2	1,2	-	1	1 (0 : 7)	-	Bockemühl et al., 1979
Gesamt	1290	7	0,5	4	1	2	0	

NT = Nicht typisierbar

Tabelle 11:

Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* in Kotproben von Schweinen

- Literaturübersicht -

Land	Anzahl der Proben	positive Proben Anzahl	Prozent	Serotypen 0 : 3 : 0 : 9	sonstige	NT	Autor
Japan	299	13	4,3	4	-	7 (0:5;10;12)	2 Tsubokura et al., 1973
	798	67	8,4	54	-	11 (0:5;27;6)	2 Zen-Yoji et al., 1974
	998	153	15,3	79	-	69 (0:5;27;6;7;12)	5 "
	2041	82(Tiere) 87(Stämme)	4,0	16	-	62 (0:5;6;7;8;10; 11;12;13; 14;16;19)	9 Tsubokura et al., 1976
	894 (incl. Mesenterial- lymphknoten)	51	5,7	14	-	37 (0:5A;5B;6;7; 10;12;16;17)	- Asakawa et al., 1979
Australien	258	0	0	-	-	-	- Blackall, 1977
	195	0	0	-	-	-	-
Kanada	544	20	3,6	10	-	10 (0:5;27;6;7;13; 8;14)	- Toma und Deidrick, 1975
Dänemark	222	12	5,4	3	-	8 (0:5;6;7)	1 Pedersen, 1976
	100	17	17,0	4	-	13 (0:5;6;7;12; 17;19;26)	- "
	399	68	17,0	17	-	46 (0:4;5;6;7;11; 12;15;17;19; 26)	5 Pedersen und Winblad, 1979

Serotypen

Land	Anzahl der Proben	positive Proben		Serotypen			sonstige	NT	Autor
		Anzahl	Prozent	0:3	0:9				
Finnland	205	1	0,5	1	-	-	-	-	Ahvenon et al., 1973
Schweden	854	18	2,1	18	-	-	-	-	Hurvell et al., 1979
Niederlande	163	8	4,9	8	-	-	-	-	Narucka und Westendoorp, 1977
	531	3	0,6	2	-	1 (0:15)	-	-	Esseveld und Goudzwaard, 1973
	641(Diarrhoe) 138(Bruc.titer)	53 19	8,3 13,8	39 -	14 19	- -	- -	- -	" "
Ungarn	1209	41	3,4	41	-	-	-	-	Szita et al., 1980
CSSR	120	2	1,6	1	-	1 (0:6)	-	-	Aldova und Laznickova, 1979
	318	21	6,6	3	-	13 (0:5;6;10;16;19;21;27)	-	5	Aldova et al., 1980
	14	6	42,8	6	-	-	-	-	"
	44	0	0	-	-	-	-	-	"
Schweiz	500	28	5,6	10	-	18 (0:4;5;6)	-	-	Leemann, 1979
Deutschland	112	44	39,3	keine Angabe				7	Leistner et al., 1975
	117(Bruc.titer)	6	5,1	-	6	-	-	-	Bockemühl und Roth, 1978
	1358	371(Tiere) 408(Stämme)	27,3	17	9	373 (0:4;5;6;7;10;11;12;16)	-	9	Bockemühl et al., 1979
	631	24	3,8	23	1	-	-	-	Weber und Lembke, 1981a
	880	1	0,1	1	-	-	-	-	Stoll, 1981
Gesamt*	14471	1085	7,5	371	49	669	45		

* Berücksichtigt wurden nur Literaturstellen, sofern sie Angaben über Anzahl der Proben, Anzahl der positiven Proben und Ergebnisse der serologischen Typisierung der Stämme enthielten

NT = Nicht typisierbar

Tabelle 12:

Vorkommen von Yersinia enterocolitica in Tonsillen von Schweinen

- Literaturübersicht -

Land	Anzahl der Proben	positive Proben		S e r o t y p e n				NT	Autor
		Anzahl	Prozent	0 : 3	0 : 9	sonstige			
USA	27	8	29,6	-	-	8 (0 : 5)		-	Hanna et al., 1980
Dänemark	282	84	30,0	84	-	-		-	Pedersen, 1979
	444	74	16,6	74	-	-		-	Christensen, 1980
	179	6	3,3	6	-	-		-	"
	99	1	1,0	1	-	-		-	"
Niederlande	163	22	13,5	22	-	-		-	Narucka und Westendoorp, 1977
Deutschland	55 (Bruc.titer)	10	18,2	-	10	-		-	Bockemühl und Roth, 1978
	480	45	9,3	36	9	-		-	Weber und Knapp, 1981
	115	33	28,7	24	9	-		-	Weber und Lembke, 1981 b
Gesamt	1844	283	15,3	247	28	8		0	

NT = Nicht typisierbar

Tabelle 13:

Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* in Kotproben von Hunden

- Literaturübersicht -

Land	Anzahl der Proben	positive Proben		S e r o t y p e n				NT	Autor
		Anzahl	Prozent	0 : 3	0 : 9	sonstige			
Japan	480	6	1,2	2	-	4 (0 : 5 B)	-	-	Yanagawa et al., 1978
USA	38	0	0	-	-	-	-	-	Asakawa et al., 1979
Finland	202	2	1	nicht durchgeführt					Wooley et al., 1980
Dänemark	496	4	0,8	3	1	-	-	-	Ahvonon et al., 1973
	40	3	7,5	1	-	2 (0 : 5; 7)	-	-	Pedersen, 1976
	115	7	6,1	2	0	5 (0 : 5 A; 6)	-	-	Pedersen und Winblad, 1979
Ungarn	50	9	18	9	-	-	-	-	Szita et al., 1980
Frankreich	6	2	33,3	-	-	2 (0:10;13,7)	-	-	Alonso et al., 1979
Deutschland	200	4	2	2	-	-	2	2	Jentzen und Hellmann, 1980
Gesamt	1627	37	2,3	19	1	13	2	2	

NT = Nicht typisierbar

Tabelle 14:

Vorkommen von Yersinia enterocolitica in Kotproben von Katzen

- Literaturübersicht -

Land	Anzahl der Proben	positive Proben		S e r o t y p e n			NT	Autor
		Anzahl	Prozent	0 : 3	0 : 9	sonstige		
Japan	294	6	2,0	2	-	4 (0 : 5 A; 14; 25)	-	Yanagawa et al., 1978
USA	110	0	0	-	-	-	-	Wooley et al., 1980
Kanada	125	1	0,8	1	-	-	-	Toma, 1973
Finnland	46	1	2,2	-	1	-	-	Ahvonnen et al., 1973
Schweden	30	0	0	-	-	-	-	Svedhem und Kaijser, 1981
Ungarn	13	6	46,2	6	-	-	-	Szita et al., 1980
Deutschland	252	2	0,8	2	-	-	-	Weber und Lembke, 1981 c
Gesamt	870	16	1,8	11	1	4	0	

NT = Nicht typisierbar

Tabelle 15:

Isolierung von *Yersinia enterocolitica* aus Fleisch verschiedener Tierarten

- Literaturübersicht -

Autor	Art d. Probe	Anzahl d. Proben	positive Proben Anzahl Prozent	S e r o t y p e n			
				0 : 3	0 : 9	sonstige	NT
Inoue und Kurose 1975	Rind	61	15 24,4	1	-	keine Angabe (0:5;6;7;8;13; 15;22;30;31)	
Leistner et al., 1975	"	37	4 10,8 6* 16,2	keine Angabe keine Angabe		2	
Hanna et al., 1976	"	107	10* 9,3	-	-	3 (0:17;22)	7
Caprioli et al., 1978	"	keine Angabe	2	-	-	1 (0:4;32)	1
Stern, 1981	"	40	0 0	-	-	-	-
Hanna et al., 1976	Lamm	30	2* 6,6	keine Angabe			
Leistner et al., 1975	Schwein	29	10 35,0 10* 35,0	1	keine Angabe keine Angabe		
Narucka und Westendoorp, 1977	"	60	0 0	-	-	-	-
Asakawa et al., 1979	"	300	4 1,3	2	-	2 (0:5)	-
Wauters, 1979	"(Zungen)	302	168 55,6	165	3	-	-

Autor	Art d. Probe	Anzahl d. Proben	positive Proben Anzahl Prozent	Serotypen			
				0:3	0:9	sonstige	NT
Schiemann, 1980	Schwein	91	39 47 (Stämme)	1	-	16 (0:5;13,7;16, 17;21;)	30
Doyle et al., 1981	" (Zungen)	37	24 28 (Stämme)	11	-	1	16
	" (Zungen)	31	16 51,0	2	-	13 (0:6,30;8;13,7; 18;46)	1
Myers et al. 1982	"	54	3 3*	3	keine Angabe keine Angabe		
Leistner et al., 1975	Geflügel	121	35 28,9	-	-	keine Angabe (0:4;5B)	-
Guthertz et al., 1976	"	75	56*	3	keine Angabe keine Angabe		
	"	82	20 24,5	-	-	6 (0:4;5,27;6;8)	14
Gesamt [†]		1050	281 26,7	181	3	41	68

[†] Berücksichtigt wurden nur Literaturstellen, sofern sie Angaben über Anzahl der Proben, Anzahl der positiven Proben und Ergebnisse der serologischen Typisierung der Stämme enthielten

* Die Stämme wurden als *Yersinia enterocolitica*-ähnlich bezeichnet

NT = Nicht typisierbar

Tabelle 16:

Isolierung von *Yersinia enterocolitica* aus Fleischerzeugnissen

- Literaturübersicht -

Autor	Art der Probe	Anzahl d. Proben	positive Proben		Serotypen			
			Anzahl	Prozent	0:3	0:9	sonstige	NT
Leistner et al., 1975	Rohwurstbrät	28	1	3,6	-	-	keine Angaben	-
			1*	3,6	-	-	keine Angaben	-
Caprioli et al., 1978	Schinken Wurst	keine Angabe	4		-	-	4 (0:6,31)	-
Asakawa et al., 1979	Schinken, Wurst	492	0	0	-	-	-	-
	Schinken	150	6	4,0	-	-	7 (0:5,6;7;12;13)	-
			7 (Stämme)		-	-		
Christensen, 1980a	Schweinehack- fleisch	65	0	0	-	-	-	-
Schiemann, 1980	Bratwurst, Frankfurter	69	5	7,2	-	-	3 (0:13,7;17)	2
Tamminga et al., 1980	Hamburger	294	0	0	-	-	-	-
Gesamt ⁺		1.070	11	1,0	0	0	10	2

⁺ Berücksichtigt wurden nur Literaturstellen, sofern sie Angaben über Anzahl der Proben, Anzahl der positiven Proben und Ergebnisse der serologischen Typisierung der Stämme enthielten

* Der Stamm wurde als *Yersinia enterocolitica*-ähnlich bezeichnet

NT = Nicht typisierbar

Tabelle 17:

Isolierung von Yersinia enterocolitica aus Milch und Milcherzeugnissen
- Literaturübersicht -

Autor	Art d. Probe	Anzahl d. Proben	positive Proben Anzahl Prozent	Serotypen			
				0:3	0:9	sonstige	NT
Caprioli et al. 1978	Kuhmilch, roh	keine Angabe	2	-	-	2 (0:6,30)	-
Schiemann, 1978a	"	55	10 18,2	-	-	10 (0:6,30;16; 16,34)	-
Schiemann und Toma, 1978	"	131	29 22,1 42 (Stämme)	-	-	13 (0:4,3;3;5;6,30; 7,8;14;15)	29
Hughes, 1979	"	keine Angabe	keine Angabe	-	-	keine Angabe (0:5A;13,15; 23,15)	
Shayegani et al. 1979	"	21	4 19,0	-	-	4 (0:6,31;8)	-
Christensen, 1980a	"	251	25 9,9	-	-	keine Angabe	
Vidon und Delmas, 1981	"	75	61 81,3 66 (Stämme)	-	-	40 (0:5;5,27;6;7; 8;27;32)	
Hughes und Jensen, 1981	Ziegenmilch, roh	274	35 12,8	-	-	34 (0:5;10;14; 15;16;22; 52;53)	1

Autor	Art der Probe	Anzahl d. Proben	positive Proben		Serotypen			NT
			Anzahl	Prozent	0 : 3	0 : 9	sonstige	
Schiemann, 1978	Kuhmilch pasteurisiert	265	1	0,4	-	-	1 (0:34)	-
Hughes, 1979	"	keine Angabe	keine Angabe		-	-	keine Angabe (0:5A; 5B; 6; 13; 15)	
Shayegani et al. 1979	"	18	0	0	-	-	-	-
Schiemann, 1978a	Weißkäse	76	7	9,2	-	-	7 (0:4; 16)	-
	Cheddar Käse	31	0	0	-	-	-	-
	div. ital. Käse	18	0	0	-	-	-	-
Gesamt ⁺		964	147	15,2	0	0	109	30

⁺ Berücksichtigt wurden nur Literaturstellen, sofern sie Angaben über Anzahl der Proben, Anzahl der positiven Proben und Ergebnisse der serologischen Typisierung der Stämme enthielten

NT = Nicht typisierbar

Tabelle 18:

Isolierung von Yersinia enterocolitica aus Wasserproben

- Literaturübersicht -

Autor	Anzahl der Proben	positive Proben Anzahl Prozent	Serotypen			
			0:3	0:9	sonstige	NT
Lassen, 1972	50	10 20,0 11 (Stämme)	-	-	4 (0:7,13)	7
Harvey et al., 1976	34	10 29,4	-	-	1 (0:16)	9
Saari und Quan, 1976	714	100 14,0	-	-	50 (0:4,33;17)	50
Highsmith et al., 1977	keine Angabe	19	1	-	4 (0:4,33;5;18;28)	9
Schiemann, 1978b	2895	44 1,5 47 (Stämme)	-	-	18 (0:1,2,3,4;6,30; 11,24;14;16; 17;18;21)	29
Caprioli et al., 1978	keine Angabe	19	-	-	16 (0:5;6,30;7,8;34; 11,24)	3
Toma et al., 1979	keine Angabe	45	-	-	23 (0:4;5;6;14;17)	22

- 2 -

Autor	Anzahl der Proben	positive Proben Anzahl Prozent	S e r o t y p e n			NT
			0 : 3	0 : 9	sonstige	
Saari und Jansen, 1979	1427	140* 9,8	-	-	80 (0:2,3;4,14;4,32, 33;5,20;6,30; 8;8,19;14;16; 17;18;19;20; 21;22)	60
Shayegani et al., 1979	31	8 25,8	1	-	1 (0:6,31;7)	6
Christensen, 1980 a	70	17 24,3	keine Angabe			
Neilson, 1980	3	1* 33,3	keine Angabe			
Weber et al., 1981	3	3* 100,0	keine Angabe			
Bartley et al., 1982	27	15 55,5 (33 Stämme)	-	-	5 (0:4,32,17;40)	28
Gesamt ⁺	5178	327 6,3	1	0	159	189

⁺ Berücksichtigt wurden nur Literaturstellen, sofern sie Angaben über Anzahl der Proben, Anzahl der positiven Proben und Ergebnisse der serologischen Typisierung der Stämme enthielten

* Die Stämme wurden als *Yersinia enterocolitica*-ähnlich bezeichnet

NT = Nicht typisierbar

Tabelle 19:

Kultivierungsverfahren für den Nachweis von *Yersinia enterocolitica* in 4 verschiedenen Probenarten.

Anreicherungsmedium	Bebrütungs- temperatur	Bebrütungs- dauer	Tonsillen- homogenisat	Rohmilch	Hackfleisch	Wasser
phosphatgepufferte Kochsalzlösung	4°C	7, 14, 21 Tage	1 ml	-	25 g	-
phosphatgepufferte Kochsalzlösung	4°C	14 Tage	-	10 ml	-	-
danach Weiterzuchtung in modifiziertem Rappaport- Medium	25°C	5 Tage	-	10 ml	-	-
modifiziertes Rappaport Medium	25°C	2 Tage	1 ml	-	25 g	10 ml
Novobiocin-Polymyxin- Kristallviolett-Bouillon	18°C	4 Tage	-	10 ml	25 g	10 ml

Tabelle 20:

Feste Nährmedien für den kulturellen Nachweis von *Yersinia enterocolitica* aus 4 verschiedenen Probenarten

Nährboden	Art der Probe			
	Tonsillen- homogenisat	Rohmilch	Hackfleisch	Wasser
Natriumdesoxycholat-Citrat- Mannit-Agar nach Saari und Jansen (1979)	X	X	X	X
"Y" Medium nach Soltész et al.(1980)	X	X	X	X
<i>Yersinia</i> -Selektivagar nach Wauters (1973)	X	X	X	X
MacConkey-Agar	X		X	
Cellobiose-Arginin- Lysin-Agar nach Dudley und Shotts (1979)	X			
Drigalski Agar	X			

Tabelle 21:

Wachstumsmerkmale von *Yersinia enterocolitica* auf den verwendeten Festnährböden

Nährboden	Wachstumsmerkmale		
	Größe	Farbe	Morphologie
Natriumdesoxycholat-Citrat-Mannit-Agar nach Saari und Jansen (1979)	1 - 2 mm	rot	glattrandig, rund, leicht gewölbt
"Y" Medium nach Soltész et al. (1980)	2 - 3 mm	farblos	glattrandig, rund, leicht gewölbt
Yersinia-Selektivagar nach Wauters (1973)	0,5 - 1 mm	farblos	nicht scharfrandig, irisierend, flach
Cellobiose-Arginin-Lysin-Agar nach Dudley und Shotts (1979)	0,5 - 2,5 mm 0,5 - 1 mm	rot außen farblos innen rot ("pin point")	glattrandig, flach bis leicht gewölbt
MacConkey-Agar	1 - 1,5 mm	farblos	glattrandig, rund, leicht gewölbt
Drigalski-Agar	1 mm	farblos	glattrandig, rund, leicht gewölbt

Tabelle 22:

Nachweis von *Yersinia enterocolitica* aus 103 Schweinetonsillen auf 6 verschiedenen Nährböden in Abhängigkeit von 2 verschiedenen Anreicherungsmedien

positive Tonsille Lfd. Nr.	Serotyp	phosphatgepufferte Kochsalzlösung						modifiziertes Rappaport Medium					
		A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F
1	0:3	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-
2	0:3	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
3	0:3	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
4	0:3	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
5	0:3	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
6	0:3	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
7	0:3	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
8	0:3	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
9	0:3	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
10	0:3	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
11	0:9	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
12	0:9	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
13	0:9	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
14	0:9	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
Gesamt		4	3	3	2	1	0	12	11	10	6	4	2

A = Natriumdesoxycholat-Citrat-Mannit-Agar nach Saari und Jansen (1979)

B = "Y" Medium nach Soltész et al. (1980)

C = *Yersinia*-Selektivagar nach Wauters (1973)

D = MacConkey-Agar

E = Cellobiose-Arginin-Lysin-Agar nach
Dudley und Shotts (1979)

F = Drigalski-Agar

Tabelle 23:

Aerobe Gesamtkeimzahl und Enterobacteriaceenzahl bei 224 Hackfleischproben

Keimzahl / g	aerobe Gesamtkeime		Enterobacteriaceen	
	Zahl	Prozent	Zahl	Prozent
10^3	-	-	67	29,9
10^4	-	-	91	40,6
10^5	45	20,1	66	29,5
10^6	100	44,6	-	-
10^7	74	33,0	-	-
10^8	5	2,2	-	-

Tabelle 24:

Aerobe Gesamtkeimzahl und E. coli Titer bei 151 Oberflächenwasser-*, 110 ungeklärten Abwasser- und 200 Rohmilcheinzelproben

aerobe Gesamt- keimzahl	Abwasser		Rohmilch		E.coli Titer	Oberflächen- wasser		Abwasser		Rohmilch	
	Zahl	%	Zahl	%		Zahl	%	Zahl	%	Zahl	%
10^3	-	-	36	18	1	72	47,7	-	-	198	99,0
10^4	4	3,6	150	75	10^{-1}	29	19,2	4	3,6	-	-
10^5	33	30	14	7	10^{-2}	27	17,9	13	11,8	2	1,0
10^6	55	50	-	-	10^{-3}	18	11,9	31	28,2	-	-
10^7	18	16,4	-	-	10^{-4}	5	3,3	62	56,4	-	-

* Bei den Oberflächenwasserproben wurde nur eine E. coli Titer Bestimmung vorgenommen.

Tabelle 25:Biochemische Reaktionen der isolierten *Yersinia enterocolitica* Stämme

Alle isolierten Stämme des Serotyps 0 : 3 und 0 : 9 verhielten sich jeweils einheitlich.

Test	0 : 3	0 : 9	Test	0 : 3	0 : 9
Cytochromoxidase	-	-	Xylose	-	+
Katalase	+	+	Indol	-	+
Glucose/Gas	+/-	+/-	Salicin	-	-
Nitratreduktion	+	+	Aeskulin	-	-
Harnstoff	+	+	Rhamnose	-	-
Mannit	+	+	Adonit	-	-
Methylrot	+	+	H ₂ S Bildung	-	-
Fruktose	+	+	Phenylalanin-Desaminase	-	-
Galaktose	+	+	Gelatine	-	-
Ribose	+	+	Citrat	-	-
Cellobiose	+	+	Raffinose	-	-
Arabinose	+	+	Melibiose	-	-
Maltose	+	+	Stärke	-	-
Sorbit	+	+	Lysin-Decarboxylase	-	-
Trehalose	+	+	Arginin-Dihydrolase	-	-
Saccharose	+	+	Laktose	-	-
Sorbose	+	+	Malonat	-	-
ONPG	+	+	Glykogen	-	-
Beweglichkeit			Inosit	-	-
37°C	-	-	Melezitose	-	-
25°C	+	+	Inulin	-	-
Voges-Proskauer			Dulcit	-	-
37°C	-	-			
25°C	+	+			
Ornithin-Decarboxylase					
37°C	-	-			
25°C	+	+			

Tabelle 26:

Ergebnisse von Pathogenitätstests mit *Yersinia enterocolitica* isoliert aus Schweinetoisillen

Pathogenitätstests										
Test-stamm	Serotyp	Biotyp (Nilehn)	Säuglings- Mäusetest LD ₅₀	adulte Mäusetest oral	Serenty Test ip.	HeLa-Zell Invasion %	Enterotoxin: %	Autoagglu- tination 25°/37°C	Plasmid Mdal	Calciumab- hängigkeit bei 37°C
1	0:3	4	2,2 x 10 ⁴	-	-	98	0,136	-/+	44	+
2	0:3	4	2,2 x 10 ⁴	-	-	95	0,145	-/+	44	+
3	0:3	4	4,6 x 10 ⁴	-	-	3,5	0,060	-/-	kein	-
4	0:3	4	3,2 x 10 ⁴	-	-	92	0,158	-/+	44	+
5	0:3	4	- *	-	-	2,7	0,160	-/-	kein	-
6	0:3	4	4,6 x 10 ⁴	-	-	94	0,180	-/+	45	+
7	0:3	4	- *	-	-	94	0,065	-/-	kein	-
8	0:3	4	3,2 x 10 ⁶	-	-	75	0,133	-/-	?	-
9	0:3	4	- *	-	-	3,5	0,068	-/-	kein	-
10	0:3	4	1,0 x 10 ⁴	-	-	93	0,168	-/+	45	+
11	0:9	2	- *	-	-	80	0,073	-/-	nicht getestet	-
12	0:9	2	- *	-	-	93	0,067	-/-	nicht getestet	-
13	0:9	2	- *	-	-	4,0	0,071	-/-	kein	-
14	0:9	2	3,2 x 10 ⁶	-	-	2,5	0,068	-/-	kein	-
positives Ergebnis:			8	0	0	0	9	7	5	5

Dr. Calvin C. Aulisio, Ph. D., (Food and Cosmetic Microbiology Branch, Division of Microbiology, Bureau of Food, Washington) sei an dieser Stelle für die Überprüfung der Ergebnisse und der darüberhinaus durchgeführten Serenty Tests und Plasmidbestimmungen herzlichst gedankt.

* Eine LD₅₀ konnte bei diesen Stämmen auch nach einer Infektionsdosis von 1,0 x 10⁷ nicht ermittelt werden.

** Bestimmung des Enterotoxins siehe Material und Methoden (C 1.5.)

Tabelle 27:

Ergebnisse von Pathogenitätstests mit *Yersinia enterocolitica* isoliert aus Stuhlproben vom Menschen

Pathogenitätstests

Teststamm	Serotyp	Biotyp (Nilehn)	Säuglings-Mäusetest LD ₅₀	adulte Mäusetest oral i.p.	HeLa-Zell Invasion %	Enterotoxin	Autoagglutination 25°/37°C	Calciumabhängigkeit bei 37°C
1	0:3	4	3,2 x 10 ⁶	-	95	0,126	-/+	+
2	0:3	4	2,2 x 10 ⁴	-	96	0,132	-/+	+
3	0:3	4	-*	-	84	0,100	-/+	+
4	0:3	4	4,6 x 10 ⁴	-	98	0,147	-/-	-
5	0:3	4	-*	-	92	0,152	-/+	+
6	0:3	4	3,2 x 10 ⁶	-	94	0,170	-/+	+
7	0:9	2	2,2 x 10 ⁴	-	90	0,110	-/+	+
8	0:9	2	-*	-	91	0,060	-/-	-
9	0:9	2	4,6 x 10 ⁴	-	97	0,131	-/+	+
10	0:9	2	1,0 x 10 ⁴	-	3,5	0,074	-/-	-
11	0:9	2	-*	-	85	0,133	-/+	+
12	0:9	2	3,2 x 10 ⁶	-	80	0,154	-/+	+

positives Ergebnis:

8

0

0

11

10

9

9

* Eine LD₅₀ konnte bei diesen Stämmen auch nach einer Infektionsdosis von $1,0 \times 10^7$ nicht ermittelt werden.

Tabelle 28:

Gegenüberstellung der eingesetzten Festnährböden zum Nachweis von *Yersinia enterocolitica*

Nährboden	Autor	Kohlehydrat	Hemmstoff (g/l)	Indikator (g/l)	pH-Wert
Natriumdesoxycholat-Citrat-Mannit-Agar	Saari und Jansen (1979)	Mannit	Natriumcitrat 16 Natriumdesoxycholat 1	Neutralrot 0,033	7,4
"γ" Medium	Soltész et al. (1980)	Laktose	Natriumoxalat 8 Natriumdesoxycholat 16 Gallensalze 5	Neutralrot 0,08	7,4
Yersinia-Selektivagar	Wauters (1973)	Laktose	Natriumcitrat 10 Natriumdesoxycholat 20 Gallensalze 8,5 Brillantgrün 0,0003	Neutralrot 0,025	7,4
Cellobiose-Arginin-Lysin-Agar	Dudley und Shotts (1979)	Cellobiose	Natriumdesoxycholat 1,5	Neutralrot 0,03	7,1
MacConkey-Agar	MacConkey	Laktose	Gallensalze 1,5 Kristallviolett 0,001	Neutralrot 0,03	7,4
Lackmus-Laktose-Agar	Drigalski	Laktose	-	Lackmus 1,2	7,4

H. LITERATURVERZEICHNIS

Ahvonen, P., E. Jansson and K. Aho (1969).

Marked cross-agglutination between Brucellae and a subtype of *Yersinia enterocolitica*.

Acta path. microbiol. Scand. 75: 291-295

Ahvonen, P., E. Thal and H. Vasenius (1973).

Occurrence of *Yersinia enterocolitica* in animals in Finland and Sweden.

Contr. Microbiol. Immunol. 2: 135-136

Aldová, E., J. Cerny and J. Chmela (1977).

Findings of *Yersinia* in rats and sewer rats.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 239: 208-212

Aldová, E. and K. Láznicková (1979).

Comments on the ecology and epidemiology of *Yersinia enterocolitica* in Czechoslovakia.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 122-131

Aldová, E., B. Skorkovský, J. Kapinus, M. Pejhovská and G. Soukupová (1980).

On the ecology of *Yersinia enterocolitica* O : 3.

Yersinia in synanthropic animals.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 246: 344-352

Alonso, J.M., H. Bercovier, P. Destombes and H.H.

Mollaret (1975).

Pouvoir pathogène expérimental de *Yersinia enterocolitica* chez la souris athymique (Nude).

Ann. Inst. Pasteur Paris 126 B: 187-199

Alonso, J.M., H. Bercovier, J. Servan and H.H. Mollaret (1979).

Contribution to the study of the ecology of *Yersinia enterocolitica* in France.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 132-143

Asakawa, Y., S. Akahane, K. Shiozawa and T. Honma (1979).

Investigations of source and route of *Yersinia enterocolitica* infection.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 115-121

Asakawa, Y., S. Akahane, N. Kagata, M. Noguchi, R. Sakazaki and K. Tamura (1973).

Two community outbreaks of human infection with *Yersinia enterocolitica*.

J. Hyg. (Camb.) 71: 715-723

Aulisio, C.C.G., I.J. Mehlman and A.C. Sanders (1980).

Alkali method for rapid recovery of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from foods.

Appl. Environ. Microbiol. 39: 135-140

Aulisio, C.C.G., I.J. Mehlman, FDA, Wash., D.C. and J.A. Morris (1981).

Yersinia enterocolitica: Use of suckling mouse in demonstrating pathogenicity.

Abstr. Ann. Meet. Amer. Soc. Microbiol. P 15: 198

Bartley, T.D., T.J. Quan, M. Collins and S.M. Morrison (1982).

Membrane filter technique for the isolation of *Yersinia enterocolitica*.

Appl. Environ. Microbiol. 43: 829-834

Bercovier, H., J.M. Alonso, P. Destombes et H.H. Mollaret (1976).

Infektion expérimentale de souris axéniques par *Yersinia enterocolitica*.

Ann. Inst. Pasteur Paris 127 A: 493-501

Bercovier, H., J. Brault, N. Barré, M. Treignier, J.M. Alonso and H.H. Mollaret (1978).

Biochemical, serological, and phage typing characteristics of 459 *Yersinia* strains isolated from a terrestrial ecosystem.

Curr. Microbiol. 1: 353-357

Bercovier, H., D.J. Brenner, J. Ursing, A.G. Steigerwalt, G.R. Fanning, J.M. Alonso, G.P. Carter and H.H. Mollaret (1980 a).

Characterization of *Yersinia enterocolitica* sensu stricto.

Curr. Microbiol. 4: 201-206

Bercovier, H., J. Ursing, D.J. Brenner, A.G. Steigerwalt, G.R. Fanning, G.P. Carter and H.H. Mollaret (1980 b).

Yersinia kristensenii: A new species of Enterobacteriaceae composed of sucrose-negative strains (formerly called atypical *Yersinia enterocolitica* or *Yersinia enterocolitica*-like).

Curr. Microbiol. 4: 219-224

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (8th. ed.).

The Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA (1974).

Black, R.E., R.J. Jackson, T. Tsai, M. Medvesky, M. Shayegani, J.C. Feeley, K.I.E. MacLeod and A.M. Wakelee (1978).

Epidemic *Yersinia enterocolitica* infection due to contaminated chocolate milk.

N. Engl. J. Med. 298: 76-79

Blackall, P. (1977).

Survey of the prevalence of *Yersinia* species in swine.

Austral. Vet. J. 53: 407

Bockemühl, J. und J. Roth (1978).

Brucella-Titer bei subklinischen Infektionen mit *Yersinia enterocolitica* Serotyp O : 9 in einem Schweinezucht-betrieb.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 240: 86-93

Bockemühl, J., H. Schmitt und I. Bednarek (1978).

Zur Häufigkeit von Darmerkrankungen durch *Yersinia enterocolitica*.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 242: 42-51

Bockemühl, J., H. Schmitt, J. Roth und E. Saupe (1979).

Die jahreszeitliche Häufigkeit der Ausscheidung von *Yersinia enterocolitica* im Kot gesunder Schlachtschweine.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 244: 494-505

Bottone, E.J., B. Chester, M.S. Malowany and J. Allershand (1974).

Unusual *Yersinia enterocolitica* isolates not associated with mesenteric lymphadenitis.

Appl. Microbiol. 27: 858-861

Bottone, E.J. (1977).

Yersinia enterocolitica: A panoramic view of a charismatic microorganism.

Crit. Rev. Microbiol. 5: 211-241

Bottone, E.J. and T. Robin (1979)

Prevalence of unique *Yersinia enterocolitica* in the area of The Mount Sinai Hospital, New York, N.Y.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 95-105

Boyce, J.M., D.J. Evans, D.G. Evans and H.L. DuPont (1979).

Production of heat-stable, methanol soluble enterotoxin by *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 25: 532-537

Brenner, D.J., A.C. Steigerwalt, D.P. Falcao, R.E. Weaver and G.R. Fanning (1976).

Characterization of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* by deoxyribonucleic acid hybridization and biochemical reactions.

Int. J. Syst. Bacteriol. 26: 180-194

Brenner, D.J. (1979).

Speciation in *Yersinia*.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 33-43

Brenner, D.J., H. Bercovier, J. Ursing, J.M. Alonso, A.G. Steigerwalt, G.R. Fanning, G.P. Carter and H.H. Mollaret (1980 a).

Yersinia intermedia: A new species of Enterobacteriaceae composed of rhamnose-positive, melibiose-positive, raffinose-positive strains (formerly called *Yersinia enterocolitica* or *Yersinia enterocolitica*-like).

Curr. Microbiol. 4: 207-212

Brenner, D.J., J. Ursing, H. Bercovier, A.G. Steigerwalt, G.R. Fanning, J.M. Alonso and H.H. Mollaret (1980 b).

Deoxyribonucleic acid relatedness in *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like organisms.

Curr. Microbiol. 4: 195-200

Brubaker, R.R. and M.J. Surgalla (1964).

The effect of Ca^{++} and Mg^{++} on lysis, growth, and production of virulence antigens by *Pasteurella pestis*.

J. Infect. Dis. 114: 13-25

Brubaker, R.R. (1972).

The genus *Yersinia*: Biochemistry and genetics of virulence.

Curr. Top. Microbiol. Immunol. 57: 111-158

Burrows, T.W. (1956).

An antigen determining virulence in *Pasteurella pestis*.

Nature (London) 177: 426-427

Burrows, T.W. and G.A. Bacon (1958).

The effects of loss of different virulence determinants on the virulence and immunogenicity of strains of *Pasteurella pestis*.

Br. J. Exp. Pathol. 39: 278-291

Caprioli, T., A.J. Drapeau and S. Kasatiya (1978).

Yersinia enterocolitica: Serotypes and biotypes isolated from humans and the environment in Quebec, Canada.

J. Clin. Microbiol. 8: 7-11

Carter, P.B., C.F. Varga and E.E. Keet (1973).

New strain of *Yersinia enterocolitica* pathogenic for rodents.

Appl. Microbiol. 26: 1016-1018

Carter, P.B. (1975).

Pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* for mice.

Infect. Immun. 11: 164-170

Carter, P.B., R.J. Zahorchak and R.R. Brubaker (1980).

Plague virulence antigens from *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 28: 638-640

Chester, B. and G. Stotzky (1976).

Temperature-dependent cultural and biochemical characteristics of rhamnose-positive *Yersinia enterocolitica*.

J. Clin. Microbiol. 3: 119-127

Chester, B., G. Stotzky, E.J. Bottone, M.S. Malowany and J. Allerhand (1977).

Yersinia enterocolitica: Biochemical, serological, and gas-liquid chromatographic characterization of rhamnose-, raffinose-, melibiose-, and citrate-utilizing strains.

J. Clin. Microbiol. 6: 461-468

Christensen, S.G. (1979).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* O : 3 from a well suspected as the source of Yersiniosis in a baby.

Acta Vet. Scand. 20: 154-156

Christensen, S.G. (1980 a).

The *Yersinia enterocolitica* prevalence in slaughter-animals, water and raw milk in Denmark.

IAMS Committee on Food Microbiology and Hygiene

XI. International Symposium 6. - 11.7.1980 Aalborg, Dänemark

Christensen, S.G. (1980 b).

Yersinia enterocolitica in danish pigs.

J. appl. Bact. 48: 377-382

Daniels, J.J.H.M. (1963).

Untersuchungen an als *Pasteurella pseudotuberculosis* diagnostizierten Stämmen von Chinchillas.

Zbl. Vet. Med. 10: 413-419

Daniels, J.J.H.M. and C. Goudzwaard (1963).

Some strains of an unidentified species of micro-organism resembling *Pasteurella pseudotuberculosis* isolated from rodents.

Diergeneesk. jrb. 88: 96-102

Dean, A.G., Y. Ching, R.G. Williams and L.B. Harden (1972).

Test for *Escherichia coli* enterotoxin using infant mice. Application in a study of diarrhea in children in Honolulu.

J. Infect. Dis. 125: 407-411

Devenish, J.A. and D.A. Schiemann (1981).

HeLa cell infection by *Yersinia enterocolitica*: Evidence for lack of intracellular multiplication and development of a new procedure for quantitative expression of infectivity.

Infect. Immun. 32: 48-55

Dickinson, A.B. and G. Mocquot (1961).

Studies on the bacterial flora of the alimentary tract of pigs I. Enterobacteriaceae and other gram-negative bacteria.

J. appl. Bact. 24: 252-284

Doyle, M.P., M.B. Hugdahl and S.L. Taylor (1981).

Isolation of virulent *Yersinia enterocolitica* from porcine tongues.

Appl. Environ. Microbiol. 42: 661-666

Dudley, M.V. and E.B. Shotts (1979).

Medium for isolation of *Yersinia enterocolitica*.

J. Clin. Microbiol. 10: 180-183

Dulbecco, R. und M. Vogt (1954).

in: "Virologische Arbeitsmethoden Band 1

(A. Mayr, P.A. Bachmann, B. Bibrack und G. Wittmann, ed.).

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1974"

Eden, K.V., M.L. Rosenberg, M. Stoopler, B.T. Wood, A.K. Highsmith, P. Skaliy, J. Wells and J.C. Feeley (1977).

Waterborne gastrointestinal illness at a ski resort
-isolation of *Yersinia enterocolitica* from drinking
water-

Publ. Health Rep. 92: 245-252

Esseveld, H. and C. Goudzwaard (1973).

On the epidemiology of *Y. enterocolitica* infections:
Pigs as the source of infections in man.

Contr. Microbiol. Immunol. 2: 99-101

Feeley, J.C., W.H. Lee and G.K. Morris (1976).

Yersinia enterocolitica. In: "Compendium of methods
for the microbiological examination of foods. (M.L.
Speck, ed.) pp 351-357

American Public Health Association, Washington, D.C."

Feeley, J.C., J.G. Wells, T.F. Tsai and N.D. Puhr (1979).

Detection of enterotoxigenic and invasive strains of
Yersinia enterocolitica.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 329-334

Francis, D.W., P.L. Spaulding and J. Lovett (1980).

Enterotoxin production and thermal resistance of
Yersinia enterocolitica in milk.

Appl. Environ. Microbiol. 40: 174-176

Frederiksen, W. (1964).

A study of some *Yersinia pseudotuberculosis*-like bacteria
("Bacterium enterocoliticum" and "Pasteurella X").

Proc. XIVth. Scand. Congr. Path. Microbiol. Oslo 103-104

Fukushima, H., Y. Ito, K. Saito, M. Tsubokura and K.

Otsuki (1979).

Role of the fly in the transport of *Yersinia enterocolitica*.

Appl. Environ. Microbiol. 38: 1009-1010

Gemski, P., J.R. Lazere and T. Casey (1980).

Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependency of *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 27: 682-685

Gill, C.O. and K.G. Newton (1979).

Spoilage of vacuum-packaged dark, firm, dry meat at chill temperatures.

Appl. Environ. Microbiol. 37: 362-364

Guthertz, L.S., J.T. Fruin, D. Spicer and J.L. Fowler (1976).

Microbiology of fresh comminuted turkey meat.

J. Milk Food Technol. 39: 823-829

Gutmann, L.T., E.A. Ottesen, T.J. Quan, P.S. Noce and S.L. Katz (1973).

An interfamilial outbreak of *Yersinia enterocolitica* enteritis.

New Engl. J. Med. 288: 1372-1377

Hässig, A., I. Karrer und F. Pusterla (1949).

Über Pseudotuberkulose beim Menschen.

Schweiz. med. Wschr. 79: 971-973

Hanna, M.O., D.L. Zink, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1976).

Yersinia enterocolitica-like organisms isolated from vacuum-packed beef and lamb.

J. Food Sci. 41: 1254-1256

Hanna, M.O., J.C. Stewart, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1977 a).

Heat resistance of *Yersinia enterocolitica* in skim milk.

J. Food Sci. 42: 1134, 1136

Hanna, M.O., J.C. Stewart, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1977 b).

Effect of heating, freezing and pH on *Yersinia enterocolitica*-like organisms from meat.

J. Food Prot. 40: 689-692

Hanna, M.O., J.C. Stewart, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1977 c).

Effect of packaging methods on the development of *Yersinia enterocolitica* on beef steaks.

J. Food Safety 1: 29-37

Hanna, M.O., C. Vanderzant, Z.L. Carpenter and G.C. Smith (1977 d).

Microbial flora of vacuum-packaged lamb with special reference to psychrotrophic, gram-positive, catalase-positive pleomorphic rods.

J. Food Prot. 40: 98-100

Hanna, M.O., J.C. Stewart, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1977 e).

Development of *Yersinia enterocolitica*-like organisms in pure and mixed cultures on different Bismuth Sulfite Agars.

J. Food Prot. 40: 676-677

Hanna, M.O., J.C. Stewart, D.L. Zink, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1977 f).

Development of *Yersinia enterocolitica* on raw and cooked beef and pork at different temperatures.

J. Food Sci. 42: 1180-1184

Hanna, M.O., G.C. Smith, L.C. Hall, C. Vanderzant and A.B. Childers (1980).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from pig tonsils.

J. Food Prot. 43: 23-25

Hansen, J.B. and R.H. Olsen (1978).

Isolation of large bacterial plasmids and characterization of the P 2 incompatibility group plasmids pMG 1 and pMG 5.

J. Bacteriol. 135: 227-238

Harvey, S., J.R. Greenwood, M.J. Pickett and R.A. Mah (1976).

Recovery of *Yersinia enterocolitica* from streams and lakes of California.

Appl. Environ. Microbiol. 32: 352-354

Heim, F., G. Scheibner und K. Fehlhaber (1980).

Untersuchungen über die Vermehrungsfähigkeit von *Yersinia enterocolitica* bei verschiedenen pH-Werten und unterschiedlichem NaCl-Gehalt der Nährmedien.

Mh. Vet. Med. 35: 347-348

Hellmann, E. und I. Schenk (1982).

Beeinflußt die Bebrütungstemperatur den Endotoxingehalt von *Yersinia enterocolitica*?

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 251: 529-536

Highsmith, A.K., J.C. Feeley, P. Skaliy, J.G. Wells and B.T. Wood (1977).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from well water and growth in distilled water.

Appl. Environ. Microbiol. 34: 745-750

Higuchi, K., L.L. Kupferberg and J.L. Smith (1959).

Studies on the nutrition and physiology of *Pasteurella pestis*: III. Effects of calcium ions on the growth of virulent and avirulent strains of *Pasteurella pestis*.

J. Bacteriol. 77: 317-321

Higuchi, K. and J.L. Smith (1961).

Studies on the nutrition and physiology of *Pasteurella pestis*: VI. A differential plating medium for the estimation of the mutation rate to avirulence.

J. Bacteriol. 81: 605-608

Hughes, D. (1979).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from milk and a dairy farm in Australia.

J. Appl. Bacteriol. 46: 125-130

Hughes, D. and N. Jensen (1981).

Yersinia enterocolitica in raw goat's milk.

Appl. Environ. Microbiol. 41: 309-310

Hurvell, B. (1972).

Serological cross-reactions between different *Brucella* species and *Yersinia enterocolitica*. Immunodiffusion and immunoelectrophoresis.

Acta. vet. Scand. 13: 472-483

Hurvell, B. (1978).

Zoonotic aspects of *Yersinia enterocolitica* infections.

Nord. Vet.-Med. 30: 297-304

Hurvell, B., P. Ahvonen and E. Thal (1971).

Serological cross-reactions between different *Brucella* species and *Yersinia enterocolitica*. Agglutination and complement fixation.

Acta. vet. Scand. 12: 86-94

Hurvell, B., V. Glatthard and E. Thal (1979).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from swine at an abattoir in Sweden.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 243-248

Hurvell, B. and A.A. Lindberg (1973).

Serological cross-reactions between different *Brucella* species and *Yersinia enterocolitica*. Immunochemical studies on phenol-water extracted lipopolysaccharides from *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica* type 9. Acta path. microbiol. Scand. Sect. B 81: 113-119

Inoue, M. and M. Kurose (1975).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from cow's intestinal contents and beef meat.

Jpn. J. Vet. Sci. 37: 91-93

Jentzen, A. und E. Hellmann (1980).

Zum Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* in Faecesproben des Hundes.

Fortschr. Vet. Med. 30: 13. Kongreßbericht 216-223

Kado, C.I. and S.-T. Liu (1981).

Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids.

J. Bact. 145: 1365-1373

Kaneko, K.-I., S. Hamada, Y. Kasal and E. Kato (1978).

Occurrence of *Yersinia enterocolitica* in house rats.

Appl. Environ. Microbiol. 36: 314-318

Kapperud, G. (1975).

Yersinia enterocolitica in small rodents from Norway, Sweden and Finland.

Acta path. microbiol. Scand. Sect. B 83: 335-342

Kapperud, G. (1977).

Yersinia enterocolitica and *Yersinia* like microbes isolated from mammals and water in Norway and Denmark.

Acta path. microbiol. Scand. Sect. B 85: 129-135

Kapperud, G. (1980 a).

Studies on the pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* and *Y. enterocolitica*-like bacteria. 1. Enterotoxin production at 22° C and 37° C by environmental and human isolates from Scandinavia.

Acta path. microbiol. Scand. Sect. B 88: 287-291

Kapperud, G. (1980 b).

Studies on the pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* and *Y. enterocolitica*-like bacteria. 2. Interaction with HeLa cells among environmental and human isolates from Scandinavia.

Acta path. microbiol. Scand. Sect. B 88: 293-297

Kapperud, G. and B. Jonsson (1976).

Yersinia enterocolitica in brown trout (*Salmo trutta* L.) from Norway.

Acta path. microbiol. Scand. Sect. B 84: 66-68

Kapperud, G. and G. Langeland (1981).

Enterotoxin production at refrigeration temperature by *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria.

Curr. Microbiol. 5: 119-122

Kapperud, G., B.P. Berdal and T. Omeland (1980).

Enterotoxin production by *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like microbes at 22° C and 37° C.

Acta path. microbiol. Scand. Sect. B 88: 65-67

Keet, E. E. (1974).

Yersinia enterocolitica septicemia. Source of infection and incubation period identified.

N.Y. State J. Med. 2226-2230

Kist, M., H. Langmaack and M. Just (1980).

Ausbreitung einer *Yersinia-enterocolitica*-Infektion im Krankenhaus.

Dtsch. med. Wschr. 105: 185-189

Knapp, W. (1980).

Enterale Yersiniosen.

Dtsch. Ärzteblatt 77: 1671-1676

Knapp, W. und E. Thal (1963).

Untersuchungen über die kulturell-biochemischen, serologischen, tierexperimentellen und immunologischen Eigenschaften einer vorläufig "Pasteurella X" benannten Bakterienart.

Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 190: 472-484

Knapp, W. und E. Thal (1973).

Die biochemische Charakterisierung von *Yersinia enterocolitica* (syn. "Pasteurella X") als Grundlage eines vereinfachten O-Antigenschemas.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 223: 88-105

Knapp, W. und A. Weber (1982).

Zur epidemiologischen und seuchenhygienischen Bedeutung von *Yersinia pestis* und *Yersinia enterocolitica*.

Öff. Gesundh.-Wes. 44: 352-356

Koburger, J.A. and C.L. Wahlquist (1979).

Identification of Enterobacteriaceae isolated from seafoods.

J. Food Prot. 42: 956-957

Kupferberg, L.L. and K. Higuchi (1958).

Role of calcium ions in the stimulation of growth of virulent strains of *Pasteurella pestis*.

J. Bacteriol. 76: 120-121

Laird, W.J. and D.C. Cavanaugh (1980).

Correlation of autoagglutination and virulence of *Yersinia*.

J. Clin. Microbiol. 11: 430-432

Larsen, J.H. (1979).

The spectrum of clinical manifestations of infections with *Yersinia enterocolitica* and their pathogenesis.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 257-269

Lassen, J. (1972).

Yersinia enterocolitica in drinking water.

Scand. J. Infect. Dis. 4: 125-127

Lawton, W.D., R.L. Erdman and M.J. Surgalla (1963).

Biosynthesis and purification of V and W antigen in *Pasteurella pestis*.

J. Immunol. 91: 179-184

Lee, W.H. (1977 a).

An assessment of *Yersinia enterocolitica* and its presence in foods.

J. Food Prot. 40: 486-489

Lee, W.H. (1977 b).

Two plating media modified with Tween 80 for isolating *Yersinia enterocolitica*.

Appl. Environ. Microbiol. 33: 215-216

Lee, W.H. (1979).

Testing for the recovery of *Yersinia enterocolitica* in foods and their ability to invade HeLa cells.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 228-233

Lee, W.H., P.P. McGrath, P.H. Carter and E.L. Eide (1977).

The ability of some *Yersinia enterocolitica* strains to invade HeLa cells.

Can. J. Microbiol. 23: 1714-1722

Lee, W.H., M.E. Harris, D. McClain, R.E. Smith and R.W. Johnston (1980).

Two modified Selenite Media for the recovery of *Yersinia enterocolitica* from meats.

Appl. Environ. Microbiol. 39: 205-209

Lee, W.H., R.E. Smith, J.M. Damaré, M.E. Harris and R.W. Johnston (1981).

Evaluation of virulence test procedures for *Yersinia enterocolitica* recovered from foods.

J. appl. Bact. 50: 529-539

Leemann, R. (1979).

Nachweis von *Yersinia enterocolitica* in Kotproben von Schlachtschweinen.

Zbl. Vet.-Med. B 26: 214-221

Leistner, L., H. Hechelmann, M. Kashiwazaki und R. Albertz (1975).

Nachweis von *Yersinia enterocolitica* in Faeces und Fleisch von Schweinen, Rindern und Geflügel.

Fleischwirtschaft. 55: 1599-1602

Maruyama, T., T. Une and H. Zen-Yoji (1979).

Observations on the correlation between pathogenicity and serovars of *Yersinia enterocolitica* by the assay applying cell culture system and experimental mouse infection.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 317-323

Mehlman, I.J., C.C.G. Aulisio and A.C. Sanders (1978).

Problems in the recovery and identification of *Yersinia* from food.

J. Assoc. Off. Anal. Chem. 61: 761-771

Meyers, J.A., D. Sanchez, L.P. Elwell and S. Falkow (1976).

Simple agarose gel electrophoretic method for the identification and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid.

J. Bacteriol. 127: 1529-1537

Mollaret, H.H., A. Chevallier et M.C. Deplanche (1964).

Contribution à l'étude d'un nouveau groupe des germes proches du bacille de Malassez et Vinal I - Caractères cultureux et biochimiques.

Ann. Inst. Pasteur Paris 107: 121-127

- Mollaret, H.H. and J.C. Guillon (1965).
 Contribution à l'étude d'un nouveau groupe de germes
 (*Yersinia enterocolitica*) proches du bacille des
 malassez et vignal. 2. Pouvoir pathogène expérimental.
 Ann. Inst. Pasteur Paris 109: 608-613
- Mollaret, H.H., H. Bercovier and J.M. Alonso (1979).
 Summary of the data received at the WHO Reference
 Center for *Yersinia enterocolitica*.
 Contr. Microbiol. Immunol. 5: 174-184
- Morris, G.K. and J.C. Feeley (1976).
Yersinia enterocolitica: A review of its role in food
 hygiene.
 Bull. World Health Organ 54: 79-85
- Mors, V. and C.H. Pai (1980).
 Pathogenic properties of *Yersinia enterocolitica*.
 Infect. Immun. 28: 292-294
- Myers, B.R., R.T. Marshall, J.E. Edmondson and M.E.
 Anderson (1981).
 Effect of potassium sorbate on growth of *Yersinia enterocolitica* in vacuum-packaged pork.
 J. Food Prot. 44: 797
- Myers, B.R., R.T. Marshall, J.E. Edmondson and W.C.
 Stringer (1982).
 Isolation of pectinolytic *Aeromonas hydrophila* and
Yersinia enterocolitica from vacuum-packaged pork.
 J. Food Prot. 45: 33-37
- Narucka, U. en J.F. Westendoorp (1977).
 Een enderzoek naar het voorkomen van *Yersinia enterocolitica* an *Yersinia pseudotuberculosis* bij klinisch
 normale varkens.
 Tijdschr. Diergeneesk. 102: 299-303, 317

- Nattermann, H., F. Horsch und H. Zimmermann (1980).
Yersinia enterocolitica Infektion in Schweinebeständen
und ihre differentialdiagnostische Bedeutung.
Mh. Vet. Med. 35: 225-227
- Neilson, A.H. (1980).
Isolation and characterization of bacteria from the
Baltic Sea.
J. Appl. Bact. 49: 199-213
- Niléhn, B. (1969).
Studies on Yersinia enterocolitica with special
reference to bacterial diagnosis and occurrence in
human acute enteric disease.
Acta path. microbiol. Scand. Suppl. 206: 1-48
- Niléhn, B. (1973).
The relationship of incubation temperature to serum
bactericidal effect, pathogenicity and in vivo survival
of Yersinia enterocolitica.
Contr. Microbiol. Immunol. 2: 85-92
- Norberg, P. (1981).
Enteropathogenic bacteria in frozen chicken.
Appl. Environ. Microbiol. 42: 32-34
- Okamoto, K., H. Ichikawa, Y. Kawamoto, A. Miyama and
S. Yoshii (1980).
Heat-stable enterotoxin produced by Yersinia entero-
colitica isolated from patients.
Microbiol. Immunol. 24: 401-408
- Okamoto, K., T. Inoue, H. Ichikawa, Y. Kawamoto and
A. Miyama (1981).
Partial purification and characterization of heat-
stable enterotoxin produced by Yersinia enterocolitica.
Infect. Immun. 31: 554-559

Olsson, E., K. Krovacek, B. Hurvell and T. Wadström
(1980).

Enterotoxigenic porcine and human isolates of *Yersinia enterocolitica* in Sweden.

Curr. Microbiol. 3: 267-271

Pai, C.H. and V. Mors (1978).

Production of enterotoxin by *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 19: 908-911

Pai, C.H., V. Mors and S. Toma (1978).

Prevalence of enterotoxigenicity in human and nonhuman isolates of *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 22: 334-338

Pai, C.H., V. Mors and T.A. Seemayer (1980).

Experimental *Yersinia enterocolitica* enteritis in rabbits.

Infect. Immun. 28: 238-244

Pai, C.H. and L. De Stephano (1982).

Serum resistance associated with virulence in *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 35: 605-611

Park C.E. (1980).

A new sensitive technique for the isolation of *Yersinia enterocolitica* from foods.

IAMS Committee on Food Microbiology and Hygiene

XI. International Symposium 6. - 11.7.1980 Aalborg,
Denmark

Pearson, A.D., I.D. Ricciardi, D.H. Wright and W.G.

Suckling (1979).

An experimental study of the pathology and ecology of *Yersinia enterocolitica* infection in mice.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 335-345

Pedersen, K.B. (1976).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from Danish swine and dogs.

Acta path. microbiol. Scand. Sect. B 84: 317-318

Pedersen, K.B. (1979).

Occurrence of *Yersinia enterocolitica* in the throat of swine.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 253-256

Pedersen, K.B. and S. Winblad (1979).

Studies on *Yersinia enterocolitica* isolated from swine and dogs.

Acta path. microbiol. Scand. Sect. B 87: 137-140

Pedersen, K.B., S. Winblad and V. Bitsch (1979).

Studies on the interaction between different O-serotypes of *Yersinia enterocolitica* and HeLa cells.

Acta path. microbiol. Scand. Sect. B 87: 141-145

Peixotto, S.S., G. Finne, M.O. Hanna and C. Vanderzant (1979).

Presence, growth and survival of *Yersinia enterocolitica* in oysters, shrimp and crab.

J. Food. Prot. 42: 974-981

Pennington, C.L. and L.S. Cronholm (1977).

The effects of urbanization on the microbial content of edible shellfish from the Gulf of Alaska.

Abstr. Ann. Meet. Amer. Soc. Microbiol. 77: 273

Portnoy, D.A., S.L. Moseley and S. Falkow (1981).

Characterization of plasmids and plasmid-associated determinants of *Yersinia enterocolitica* pathogenesis.

Infect. Immun. 31: 775-782

Primavesi, C.A. (1980).

Die Yersiniose und ihre seuchenhygienische Bedeutung.
Öff. Gesundh.-Wes. 42: 111-115

Quan, T.J. (1979).

Biotypic and serotypic profiles of 367 *Yersinia enterocolitica* cultures of human and environmental origin in the United States.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 83-87

Quan, T.J., J.L. Meek, K.R. Tsuchiya, B.W. Hudson and A.M. Barnes (1974).

Experimental pathogenicity of recent North American isolates of *Yersinia enterocolitica*.

Raevuori, Nurmi und Hill (1979).

Europäischer Fleischforscher Kongreß, Kulmbach
Fleischwirtschaft 1: 63

Rabson, A.R., A.F. Hallet and H.J. Koornhof (1975).

Generalized *Yersinia enterocolitica* infection.

J. Infect. Dis. 131: 447-451

Rakovsky, J. (1973).

Experimental pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* serotype 3.

Contr. Microbiol. Immunol. 2: 81-84

Rakovsky, J., V. Pauckova and E. Aldova (1973).

Human *Yersinia enterocolitica* infections in Czechoslovakia.

Contr. Microbiol. Immunol. 2: 93-98

Rao, M.C., S. Guandalini, W.J. Laird and M. Field
(1979).

Effects of heat-stable enterotoxin of *Yersinia enterocolitica* on ion transport and cyclic guanosine 3', 5'-monophosphate metabolism in rabbit ileum.

Infect. Immun. 26: 875-878

Reed, L.J. and J. Muench (1938).

A simple method of estimating fifty percent endpoints.

Amer. J. Hyg. 27: 493-497

Ricciardi, I.D., A.D. Pearson, W.G. Suckling and C. Klein
(1978).

Long-term fecal excretion and resistance induced in mice infected with *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 21: 342-344

Robins-Browne, R.M., C.S. Still, M.D. Miliotis and H.J. Koornhof (1979).

Mechanism of action of *Yersinia enterocolitica* enterotoxin.

Infect. Immun. 25: 680-684

Saari, T.N. and T.J. Quan (1976).

Waterborne *Yersinia enterocolitica* in Colorado.

Abstr. Ann. Meet. Amer. Soc. Microbiol. 76: 45

Saari, T.N. und G.P. Jansen (1979).

Waterborne *Yersinia enterocolitica* in the Midwest United States.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 185-195

Schiemann, D.A. (1978 a).

Association of *Yersinia enterocolitica* with the manufacture of cheese and occurrence in pasteurized milk.

Appl. Environ. Microbiol. 36: 274-277

Schiemann, D.A. (1978 b).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from surface and well waters in Ontario.

Can. J. Microbiol. 24: 1048-1052

Schiemann, D.A. (1979).

Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*.

Can. J. Microbiol. 25: 1298-1304

Schiemann, D.A. (1980).

Isolation of toxigenic *Yersinia enterocolitica* from retail pork products.

J. Food Prot. 43: 360-365

Schiemann, D.A. (1981).

An enterotoxin-negative strain of *Yersinia enterocolitica* serotype O : 3 is capable of producing diarrhea in mice.

Infect. Immun. 32: 571-574

Schiemann, D.A. (1982).

Development of a two-step enrichment procedure for recovery of *Yersinia enterocolitica* from food.

Appl. Environ. Microbiol. 43: 14-27

Schiemann, D.A. and S. Toma (1978).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from raw milk.

Appl. Environ. Microbiol. 35: 54-58

Schiemann, D.A. and J.A. Devenish (1980).

Virulence of *Yersinia enterocolitica* determined by lethality in Mongolian gerbils and by the Sereny test.

Infect. Immun. 29: 500-506

Schiemann, D.A., J.A. Devenish and S. Toma (1981).

Characteristics of virulence in human isolates of *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 32: 400-403

Schiemann, D.A. and C.A. Fleming (1981).

Yersinia enterocolitica isolated from throats of swine in Eastern and Western Canada.

Can. J. Microbiol. 27: 1326-1333

Schiemann, D.A. and J.A. Devenish (1982).

Relationship of HeLa cell infectivity to biochemical, serological and virulence characteristics of *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 35: 497-506

Schillinger, J.E. and G.A. Mc Feters (1978).

Survival of *Escherichia coli* and *Yersinia enterocolitica* in stream and tap waters.

Abstr. Ann. Meet. Amer. Soc. Microbiol. 78: 175

Schleifstein, J.I. and M.B. Coleman (1939).

An unidentified microorganism resembling *B. lignieri* and *Pasteurella pseudotuberculosis* and pathogenic in man.

N.Y. State J. Med. 39: 1749-1753

Schleifstein, J.I. and M.B. Coleman (1943).

Annual report of Laboratories and research.

N.Y. State Dep. of Health, Albany 56

zitiert nach Frederiksen (1964)

Seelye, R.J. and B.J. Yearbury (1979).

Isolation of *Yersinia enterocolitica*-resembling organisms and *Alteromonas putrefaciens* from vacuum-packed chilled beef cuts.

J. Appl. Bact. 46: 493-499

Seidemann, S.C., C. Vanderzant, M.O. Hanna, Z.L.

Carpenter and G.C. Smith (1976).

Effect of various types of vacuum packages and length of storage on the microbial flora of wholesale and retail cuts of beef.

J. Milk Food Technol. 39: 745-753

Sereny, B. (1955).

Experimental Shigella keratoconjunctivitis.

Acta Microbiol. Hung. 2: 293-296

Shayegani, M., E.J. Menegio, D.M. McGlynn and H.A.

Gaafar (1979).

Yersinia enterocolitica in Oneida County, New York.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 196-205

Smith, R.E., A.M. Carey, J.M. Damaré, F.M. Hetrick,

R.W. Johnston and W.H. Lee (1981).

Evaluation of iron dextran and mucin for enhancement of the virulence of Yersinia enterocolitica serotype O : 3 in mice.

Infect. Immun. 34: 550-560

Soemitro, D.W., R. Wokatsch and J. Bockemühl (1981).

Interaction between HeLa cells and epidemiologically defined strains of Yersinia enterocolitica isolated in the Federal Republic of Germany.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 251: 203-212

Soltész, L., C. Schalén and P.-A. Márðh (1980).

An effective, selective medium for Yersinia enterocolitica containing sodium oxalate.

Acta path. microbiol. Scand. Sect. B 88: 11-16

Stern, N.J. (1981).

Isolation of potentially virulent Yersinia enterocolitica from variety meats.

J. Food Sci. 46: 41-42, 51

Stern, N.J. and J.M. Damaré (1982).

Comparison of selected Yersinia enterocolitica indicator tests for potential virulence.

J. Food Sci. 47: 582-584

Stern, N.J. and J.L. Oblinger (1980).

Recovery of *Yersinia enterocolitica* from surfaces of inoculated hearts and livers.

J. Food Prot. 43: 706-708

Stern, N.J., M.D. Pierson and A.W. Kotula (1980 a).

Effects of pH and sodium chloride on *Yersinia enterocolitica* growth at room and refrigeration temperatures.

J. Food Sci. 45: 64-67

Stern, N.J., M.D. Pierson and A.W. Kotula (1980 b).

Growth and competitive nature of *Yersinia enterocolitica* in whole milk.

J. Food. Sci. 45: 972-974

Steuer, W. (1982).

Pathogene Keime im Abwasser nach Kläranlagen und in Vorflutern.

Öff. Gesundh.-Wes. 44: 390-396

Stevens, M. and N.S. Mair (1973).

A numerical taxonomic study of *Yersinia enterocolitica* strains.

Contr. Microbiol. Immunol. 2: 17-22

Stoll, L. (1981).

Bakteriologische und serologische Untersuchungen zum Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* bei Mensch und Schwein in Südhessen.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 88: 184-187

Strobel, S., H. Löhr, H.G. Posselt, R. Wönne und S.W. Bender (1980).

Septische Verlaufsformen von *Yersinia-enterocolitica*-Infektionen bei gesunden und chronisch kranken Kindern.

Dtsch. med. Wschr. 105: 1739-1743

Svedhelm, A. and B. Kaijser (1981).

Isolation of *Campylobacter jejuni* from domestic animals and pets: Probable origin of human infection
J. Inf. 3: 37-40
zitiert nach Weber und Lembke (1981 c).

Szita, J., M. Kali and B. Redey (1973).

Incidence of *Yersinia enterocolitica* infection in Hungary.
Contr. Microbiol. Immunol. 2: 106-110

Szita, J., A. Svidró, M. Kubinyi, I. Nyomárkay and I. Mihályfi (1980).

Yersinia enterocolitica infection of animals and human contacts.
Acta microbiol. Acad. Sci. hung. 27: 103-109

Tamminga, S.K., R.R. Beumer en E.H. Kampelmacher (1980).

Bakteriologisch onderzoek van hamburgers. I Onderzoek van rauwe, gewelde, of voorgebraden hamburgers.
Voedingsmiddelentechnologie 21: 29-34

Toivanen, P., A. Toivanen, L. Olkkonen and S. Aantaa (1973).

Hospital outbreak of *Yersinia enterocolitica* infection.
Lancet 801-803

Toma, S. (1973).

Survey on the incidence of *Yersinia enterocolitica* in the Province of Ontario.
Can. J. Publ. Health 64: 477-484

Toma, S. and V. Deidrick (1975).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from swine.
J. Clin. Microbiol. 2: 478-481

Toma, S. and L. Lafleur (1974).

Survey on the incidence of *Yersinia enterocolitica* infection in Canada.

Appl. Microbiol. 28: 469-473

Toma, S. and L. Lafleur (1981).

Yersinia enterocolitica infections in Canada 1966 to August 1978.

In: "*Yersinia enterocolitica* (Bottone, E.J., ed.) pp 184-191

CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida"

Toma, S., L. Lafleur and V.R. Deidrick (1979).

Canadian experience with *Yersinia enterocolitica* (1966 - 1977).

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 144-149

Tsubokura, M., K. Otsuki and K. Itagaki (1973).

Studies on *Yersinia enterocolitica*. I. Isolation of *Yersinia enterocolitica* from swine.

Jpn. J. Vet. Sci. 35: 419-424

Tsubokura, M., T. Fukuda, K. Otsuki, M. Kubota, K. Itagaki, K. Yamaoka and M. Wakatsuki (1976).

Studies on *Yersinia enterocolitica*. II. Relationship between detection from swine and seasonal incidence, and regional distribution of the organism.

Jpn. J. vet. Sci. 38: 1-6

Une, T. (1977 a).

Studies on the pathogenicity of *Yersinia enterocolitica*. I. Experimental infection in rabbits.

Microbiol. Immunol. 21: 349-363

Une, T. (1977 b).

Studies on the pathogenicity of *Yersinia enterocolitica*. II. Interaction with cultured cells in vitro.

Microbiol. Immunol. 21: 365-377

- Une, T., H. Zen-Yoji, T. Maruyama and Y. Yanagawa (1977).
Correlation between epithelial cell infectivity in vitro
and O-antigen groups of *Yersinia enterocolitica*.
Microbiol. Immunol. 21: 727-729
- Une, T. and H. Zen-Yoji (1979).
Investigations on the pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* by experimental infections in rabbits and
cultured cells.
Contr. Microbiol. Immunol. 5: 304-309
- Ursing, J., D.J. Brenner, H. Bercovier, G.R. Fanning,
A.G. Steigerwalt, J. Brault and H.H. Mollaret (1980).
Yersinia frederiksenii: A new species of Enterobacteriaceae composed of rhamnose-positive strains
(Formerly called atypical *Yersinia enterocolitica* or
Yersinia enterocolitica-like).
Curr. Microbiol. 4: 213-217
- Vandepitte, J., G. Wauters and A. Isebaert (1973).
Epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infection in
Belgium.
Contr. Microbiol. Immunol. 2: 111-119
- Vandepitte, J. and G. Wauters (1979).
Epidemiological and clinical aspects of human *Yersinia enterocolitica* infections in Belgium.
Contr. Microbiol. Immunol. 5: 150-158
- Van Noyen, R., J. Vandepitte and R. Selderslaghs (1979).
Human gastrointestinal infections by *Yersinia enterocolitica*.
Contr. Microbiol. Immunol. 5: 283-291
- Van Noyen, R., J. Vandepitte and G. Wauters (1980).
Nonvalue of cold enrichment of stools for isolation of
Yersinia enterocolitica serotypes 3 and 9 from patients.
J. Clin. Microbiol. 11: 127-131

Vesikari, T., J. Bromirska and M. Mäki (1982).

Enhancement of invasiveness of *Yersinia enterocolitica* and *Escherichia coli* in HEp-2 cells by centrifugation.
Infect. Immun. 36: 834-836

Vesikari, T., T. Nurmi, M. Mäki, M. Skurnik, C. Sundqvist, K. Granfors and P. Grönroos (1981).

Plasmids in *Yersinia enterocolitica* serotypes O : 3 and O : 9: Correlation with epithelial cell adherence in vitro.

Infect. Immun. 33: 870-876

Vidon, D.J.M. and C.L. Delmas (1981).

Incidence of *Yersinia enterocolitica* in raw milk in Eastern France.

Appl. Environ. Microbiol. 41: 355-359

Wauters, G. (1970).

Contribution a l'étude de *Yersinia enterocolitica*.

Thesis, Louvain, Belgium 165

zitirt nach Knapp und Thal (1973)

Wauters, G. (1973).

Improved methods for the isolation and the recognition of *Yersinia enterocolitica*.

Contr. Microbiol. Immunol. 2: 68-70

Wauters, G. (1979).

Carriage of *Yersinia enterocolitica* serotype 3 by pigs as a source of human infection.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 249-252

Wauters, G. (1981).

Antigens of *Yersinia enterocolitica*.

In: "*Yersinia enterocolitica* (Bottone, E.J., ed.) pp 42-53

CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida"

- Wauters, G., L. Le Minor et A.M. Chalon (1971).
Antigènes somatiques et flagellaires des *Yersinia enterocolitica*.
Ann. Inst. Pasteur Paris 120: 631-642
- Wauters, G., L. Le Minor, A.M. Chalon et J. Lassen (1972).
Supplément au schéma antigénique de *Yersinia enterocolitica*.
Ann. Inst. Pasteur Paris 122: 951-956
- Weaver, R.E. and J.G. Jordan (1973).
Recent human isolates of *Yersinia enterocolitica* in the United States.
Contr. Microbiol. Immunol. 2: 120-125
- Weber, A. und W. Knapp (1981).
Über die jahreszeitliche Abhängigkeit des Nachweises von *Yersinia enterocolitica* und *Yersinia pseudotuberculosis* in Tonsillen gesunder Schlachtschweine.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 250: 78-83
- Weber, A. und C. Lembke (1981 a).
Untersuchungen zum Vorkommen von humanpathogenen *Yersinia enterocolitica* und *Yersinia pseudotuberculosis* bei Schlachttieren.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 94: 5-8
- Weber, A. und C. Lembke (1981 b).
Vergleichende Anwendung von zwei Anreicherungsverfahren und fünf Selektivnährböden zur Isolierung von *Yersinia enterocolitica* aus Tonsillen von Schlachtschweinen.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 250: 72-77
- Weber, A. und C. Lembke (1981 c).
Untersuchungen zum Vorkommen von humanpathogenen *Yersinia enterocolitica* bei Katzen.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 94: 325-327

Weber, G., G. Stanek, N. Massiczek und M.-F. Klenner (1981).

Yersinia enterocolitica im Trinkwasser.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 173: 209-216

Winblad, S. (1967).

Studies on serological typing of *Yersinia enterocolitica*.

Acta path. microbiol. Scand. Suppl. 187: 115

Windblad, S. (1973).

Studies on the O-serotypes of *Yersinia enterocolitica*.

Contr. Microbiol. Immunol. 2: 27-37

Windblad, S. (1978).

Yersinia enterocolitica (Synonyms: "Pasteurella X", *Bacterium enterocoliticum* for Serotype O : 8)

In: "Methods in Microbiology Vol. 12 (Bergan, T. and Norris, J.R., ed.) pp 37-50

Academic Press London, New York, San Francisco"

Winblad, S. (1979).

Differentiation of *Yersinia enterocolitica* strains in subgroups after biochemistry and serology.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 44-49

Wooley, R.E., DVM, PhD; E.B. Shotts, Jr, PhD and J.W.

McConnell, BS. (1980).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from selected animal species.

Am. J. Vet. Res. 41: 1667-1668

Wuthe, H.-H., G. Schulz-Lell, I. Böhlick und S. Aleksić (1982).

Ergebnisse von kulturellen Untersuchungen auf *Yersinia enterocolitica* in Proben von Menschen und Schweinen in Schleswig-Holstein.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 95: 288-292

Yanagawa, Y., T. Maruyama and S. Sakai (1978).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from apparently healthy dogs and cats.

Microbiol. Immunol. 22: 643-646

Zen-Yoji, H. (1981).

Epidemiologic aspects of Yersiniosis in Japan.

In: "Yersinia enterocolitica (Bottone, E.J., ed.)
pp 205-216

CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida"

Zen-Yoji, H. and T. Maruyama (1972).

The first successful isolations and identification of *Yersinia enterocolitica* from human cases in Japan.

Jpn. J. Microbiol. 16: 493-500

Zen-Yoji, H., T. Maruyama, S. Sakai, S. Kimura, T. Mizuno and T. Momose (1973).

An outbreak of enteritis due to *Yersinia enterocolitica* occurring at a junior high school.

Jpn. J. Microbiol. 17: 220-222

Zen-Yoji, H., S. Sakai, T. Maruyama and Y. Yanagawa (1974).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from swine, cattle and rats at an abattoir.

Jpn. J. Microbiol. 18: 103-105

Zink, D.L., J.C. Feeley, J.G. Wells, C. Vanderzant, J.C. Vickery, W.D. Roof and G.A. O'Donovan (1980).

Plasmid-mediated tissue invasiveness in *Yersinia enterocolitica*.

Nature (London) 283: 224-226

L e b e n s l a u f

6.6.1953	geb. in Essen als Sohn des Diplomkaufmanns Ludwig Stengel und seiner Ehefrau Margot, geb. Fretz
1960 - 1964	Grundschule in Essen
1964 - 1973	Helmholtz-Gymnasium in Essen
Mai 1973	Reifeprüfung
Sommersemester 1974	Zulassung zum Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
März 1976	Physikum
Juni 1979	Tierärztliche Prüfung
Juli 1979	Approbation als Tierarzt
Seit 1.9.1979	Anstellung als wissenschaft- licher Mitarbeiter an der Landesanstalt für Veterinär- medizin und Lebensmittelhygiene Berlin

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. Untermann für die Überlassung des Themas, die jederzeit gewährte Hilfsbereitschaft sowie für die freundliche Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit sehr herzlich danken.

Mein Dank gilt ebenfalls Dr. Calvin C. Aulisio, Ph. D. (Food and Cosmetics Microbiology Branch, Division of Microbiology Bureau of Foods) für die Durchführung der Pathogenitätstests sowie für die hilfreichen Anregungen aufgrund persönlicher Mitteilungen.

Herzlich danken möchte ich auch dem Ltd. Medizinaldirektor Herrn Dr. Reinsch (Landesmedizinaluntersuchungsamt Berlin) für die Überlassung einiger *Yersinia enterocolitica* Stämme.

Weiterhin gilt mein Dank allen Mitarbeitern der Landesanstalt für Veterinärmedizin und Lebensmittelhygiene für die stete Hilfsbereitschaft.

